

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

**Avaliação do comportamento de compressão de dois extratos secos de
Achyrocline satureioides (Lam.) DC. Compositae (marcela)**

VINICIUS CLAUDINO BICA

PORTO ALEGRE, 2009

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

**Avaliação do comportamento de compressão de dois extratos secos de
Achyrocline satureioides (Lam.) DC. Compositae (marcela)**

Dissertação apresentada por **Vinicius Claudino Bica**
para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick

PORTO ALEGRE, 2009

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada com louvor em 22.12.2009, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. José Aparício Brittes Funck

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

B583a Bica, Vinicius Claudino

Avaliação do comportamento de compressão de dois extratos secos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela) / Vinicius Claudino Bica. – Porto Alegre: UFRGS, 2009. – 304 p. : il.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. *Achyrocline satureioides*. 2. Compositae. 3. Marcela. 4. Produto seco por aspersão. 5. Granulação. 6. Comprimidos. 7. Física da compressão. 8. Validação: métodos analíticos. I. Petrovick, Pedro Ros. II. Título.

CDU: 615.453:582.998

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira – CRB 10/480

Este trabalho foi desenvolvido na no Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LDG), fazendo uso de equipamentos da Central Analítica (PPGCF), do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF), do Laboratório de Química Farmacêutica (LAPPS) da Faculdade de Farmácia e do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) do curso de Engenharia de Materiais; todos pertencentes à Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Contou com suporte do Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), órgão financiador da bolsa de estudos e do projeto de pesquisa desenvolvido neste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A todos que passaram pela minha vida e fizeram marcas indeléveis na minha mente e coração, eu dedico este singelo trabalho.

De qualquer modo, cabe ressaltar aqueles que tiveram pronunciada influência nesta incipiente caminhada rumo a minha realização profissional e pessoal.

Ao Professor Dr. Pedro Ros Petrovick, pela orientação, pela confiança depositada e, principalmente, pela amizade. Fica aqui também explicitada a minha grande admiração pelo seu exemplo de conduta profissional e de figura humana.

Aos professores e amigos do Laboratório de Desenvolvimento Galênico, George González Ortega, Helder Teixeira, Letícia Koester e, sobretudo, Paulo Mayorga e Valquíria Link Bassani que possibilitaram a realização deste trabalho por meio da disponibilização, respectivamente, das instalações e equipamentos do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF) e dos produtos secos por aspersão empregados.

A todos os professores preeminentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas e desta faculdade que se esforçam no aprimoramento da pesquisa e ensino no Brasil calcadas nos hodiernos valores e conceitos pedagógicos. Aos funcionários desta instituição que lutam para subverter a lógica letárgica do funcionalismo público.

Ao prof. Pedro Fröhlich pela disponibilidade de utilização de equipamento e apoio técnico no Laboratório de Química Farmacêutica (LAPPS), havendo um particular agradecimento para o meu amigo Leonardo Meneghini. Da mesma forma, o agradecimento se estende ao Prof. Carlos Pérez Bergmann pela utilização de equipamento e auxílio técnico do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER). Ao Tiago da Silva Alves (Departamento de Botânica) pelo auxílio dado na identificação da planta.

Aos meus amigos LDGênicos de várias “temporadas” que proporcionaram ao longo deste curso de tempo um ambiente tão acolhedor e amistoso que, sinceramente, me sinto parte integrante desta grande família. Alguns membros recentes e antigos desta família a quem eu agradeço: Alexandre, Angélica, Ângela, Ana Paula, Bárbara, Bethânia, Cabral, Camila, Cleverson, Daiane, Débora, Elias, Fabrício, Francilene, Francini, Giovana, Giovanni, Gizele, Greice, Gustavo Petrovick, Gustavo Borré, Hemiliano, Iguatinã, Janine, Juliana, Karina, Laura, Laura Oliveira, Laura Volker, Leandro, Luana, Liége, Lisias, Maria, Maria Paula, Mariana Petry, Maribete, Olívia, Pedro, Rafael, Raquel, Renata, Regina, Roberta, Romeu, Samanta, Samuel, Simone, Tiago Iglin, Thiago, Tiago Sausen e Ueiler. Especial agradecimento a Sílvia Piran (bolsista) e Jacir José Piran.

Aos meus familiares, especialmente meus pais e irmãos, pelos valores verdadeiros e perenes a mim transmitidos, assim como pelos laços de amor e respeito que nos unem e que fazem, a despeito dos sinais contrários, eu crer num futuro para humanidade pródigo em alegria, harmonia e paz.

A Deus por botar no meu caminho tantas pessoas especiais.

*A súmula da sabedoria  esta:
nunca nenhum tempo  perdido
o que se consagra ao trabalho.*
Ralph Waldo Emerson

*The universe is like safe to which
there is a combination, but the
combination is locked up in the
safe.*
Peter de Vries

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar dois produtos secos por aspersão, obtidos a partir das soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % (PSA40) e 80 % (PSA80) das inflorescências de *Achyrocline satureioides*, quanto ao desempenho no processo de obtenção de comprimidos. Os PSA demonstraram propriedades tecnológicas deficientes necessitando, assim, de etapa adicional de granulação, sendo eleita a técnica por via seca em face da sensibilidade dos mesmos frente à umidade e ao calor. A granulação via seca por desagregação engendrada a partir de compactos resultou em produtos intermediários adequados para a produção de comprimidos. Os granulados de PSA40 (GRPSA40) e PSA80 (GRPSA80) apresentaram características tecnológicas equiparáveis confirmando que o fator decisivo está ligado ao processo. A segregação granulométrica oriunda da adição de desintegrante e material de enchimento na forma pulveréa tornaram imperativa a produção de granulados co-processado de adjuvantes (GRADJ). Para tanto, estudos de desenvolvimento e otimização foram realizados. Os complexos farmacêuticos (CF) foram constituídos pelos GRPSA, GRADJ selecionado e lubrificante. A compressão dos CF resultou em comprimidos sem laminação, *capping* ou aderência, no entanto, sinais de percolação foram evidenciados, sendo estes detectados por análise de imagem. A variável de processo empregada, velocidade de rotação em máquina de comprimir rotativa, determinou alterações em características dos comprimidos, notadamente, para formulação derivada de PSA40. De modo geral, ambas as formulações mostraram viabilidade na produção de comprimidos haja vista suas boas propriedades mecânicas, uniformidade de conteúdo e a rápida cedência. O longo tempo de armazenamento, bem como as etapas de processamento não causaram modificações na concentração dos marcadores flavonoídicos. O estudo de física da compressão evidenciou comportamento plástico para os diferentes produtos intermediários sendo dependente da relação ponderal ou volumétrica entre o PSA e a celulose microcristalina. Visando alcançar menor de tempo de corrida e maior resolução dos picos dos marcadores flavonoídicos se desenvolveu e validou método por CLAE.

Unitermos: *Achyrocline satureioides*, Produto seco por aspersão, granulação, comprimido, física da compressão, validação

ABSTRACT

Evaluation of the compressional behavior of two spray dried extracts from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (“marcela”)

The aim of this study was to evaluate the performance of two spray dried products obtained from the extractive hydroalcoholic solutions at 40 % (PSA40) and 80 % (PSA80) from the inflorescences of *Achyrocline satureioides* in the production of tablets. The PSA showed poor technological properties assigned mainly from its small size, thus requiring an additional step of granulation. In order to overcome such problems a formulation was developed intending a dry granulation process. The slugging in an eccentric tablet press and milling resulted in intermediate products suitable for the production of tablets. Moreover, granular PSA40 (GRPSA40) and PSA80 (GRPSA80) had comparable technological properties confirming that the decisive factor is linked to the process. The observed particle segregation when adding powdered disintegrant and filling material to the GRPSA justified the imperative necessity to produce co-processed adjuvant granules (GRADJ). Studies of development and optimization for this product were performed. The compression mixes (CF) were composed by each GPSA, the chosen GRADJ and lubricant. Compression of CF resulted in tablets without lamination, capping or adherence, however, with signs of percolation, the latter being supported by image analysis. The rotation speed, variable of process of compression in a rotatory tablet press, influenced the characteristics of the tablets, especially for the formulation containing PSA40. Both formulations (GRPSA40 and GRPSA80) demonstrated to be viable in the production of tablets considering their good mechanical properties, uniformity of content and fast release. The long-term storage, as well as the productive steps did not result in alterations of the concentration of marker flavonoids. The study of physical compression showed plastic behavior for the intermediate products being dependent on the volume or weight ratio between the PSA and microcrystalline cellulose. For analytical purposes a HPLC method was developed and validated aiming at a shorter run time and a better resolution of the peaks of the major flavonoids.

Key Words: *Achyrocline satureioides*, spray dried extract, granulation, tablet, physical compression, validation

APRESENTAÇÃO

O presente trabalho tem como objetivo avaliar dois produtos secos por aspersão, obtidos a partir das soluções extrativas das inflorescências de *Achyrocline satureioides* quanto ao desempenho no processo de obtenção de comprimidos.

A fim de proporcionar ao leitor uma melhor exposição do tema, bem como tornar a leitura mais aprazível, o trabalho foi dividido em oito capítulos e adicionados de introdução e discussão geral, resumidamente descritos abaixo:

Introdução – contextualiza a fitoterapia no cenário brasileiro e mundial, da mesma forma, apresenta uma curta revisão da literatura sobre a *A. satureioides* e seu desenvolvimento tecnológico, evidenciando a importância do tema;

Capítulo 1 – caracterização tecnológica e comparação dos dois produtos secos por aspersão a fim de avaliar sua adequação tecnológica para produção de comprimidos;

Capítulo 2 – visando a posterior produção de granulado por via seca foram produzidos briquetes dos dois produtos secos por aspersão e, a seguir, caracterizados;

Capítulo 3 – a partir dos briquetes produzidos se desenvolveu granulação por desagregação, sendo os granulados calibrados caracterizados e comparados entre si;

Capítulo 4 – foram desenvolvidos, otimizados, produzidos e caracterizados granulados co-processados de adjuvantes visando evitar a segregação durante a mistura do complexo farmacêutico entre a fase interna e a fase externa;

Capítulo 5 – produção de comprimidos em máquinas de comprimir rotativas a partir de complexos farmacêutico constituído de fase interna e externa na forma granular, da mesma forma, caracterização completa dos comprimidos se avaliando o efeito da variável de processo, velocidade de rotação;

Capítulo 6 – avaliação da higroscopicidade dos produtos secos por aspersão, produtos intermediários e finais por meio de isotermas de sorção e dessorção;

Capítulo 7 – estudo de física da compressão dos produtos secos por aspersão e seus derivados empregando-se máquina de comprimir instrumentalizada e punções côncavas;

Capítulo 8 – caracterização da matéria-prima vegetal, produção de soluções extrativas e, por fim, desenvolvimento e validação de método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência para os marcadores flavonoídicos de *A. satureioides*;

Discussão Geral – interrelaciona os outros capítulos congregando informações dos mesmos, almejando chegar a conclusões abalizadas.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 2.5.1. Teor de umidade dos PSA40 e PSA80.	30
Tabela 2.5.2. Determinação do pH do PSA40 e PSA80.....	30
Tabela 2.5.3. Parâmetros do modelo de Morgan-Mercer-Flodin	31
Tabela 2.5.4. Equações da reta obtida dos dados transformados da microscopia óptica pelo modelo de Morgan-Mercer-Flodin.	32
Tabela 2.5.5. Resultados da análise granulométrica.....	35
Tabela 2.5.6. Área superficial específica dos produtos secos.....	40
Tabela 2.5.7. Análise comparativa da caracterização dos PSA40 e PSA80.....	41
Tabela 2.5.8. Resultados sumarizados das regressões dos marcadores flavonoídicos dos PSA40 e PSA80.....	45
Tabela 2.5.9. Avaliação comparativa entre os resultados das concentrações dos flavonóides quercetina, luteolina e 3- <i>O</i> -metilquercetina nos PSA40 e PSA80 nos dois modos de preparo da amostra.....	47

CAPÍTULO 2

Tabela 3.5.1. Comparação das características morfológicas e ponderais dos briquetes.....	64
Tabela 3.5.2. Comparação das características tecnológicas dos briquetes.....	65
Tabela 3.5.3. Análise estatística de correlação entre o peso e a dureza dos briquetes obtidos da compressão dos complexos farmacêuticos CF40 e CF80	66
Tabela 3.5.4. Dados da análise da variância da regressão linear da relação entre peso e dureza dos briquetes do complexo farmacêutico CF40.....	66
Tabela 3.5.5. Dados da análise de regressão linear da relação entre peso médio e dureza dos briquetes do complexo farmacêutico CF40	66
Tabela 3.5.6. Estudo preliminar sobre a sensibilidade da dureza dos compactos CF80 à umidade	69
Tabela 3.5.7. Resultados do teste do tempo de desintegração	72
Tabela 3.5.8. Resultados da caracterização dos briquetes do complexo farmacêutico CF40SA.....	74

CAPÍTULO 3

Tabela 4.5.1 Resultados do cálculo teórico e da determinação de água residual nos granulados por perda por dessecação e pelo método de Karl Fischer	90
Tabela 4.5.2. Equações da reta obtida dos dados de tamisação.....	94

Tabela 4.5.3. Análise do diâmetro médio obtido por retas de frequência	94
Tabela 4.5.4. Parâmetros do Modelo de Richards	97
Tabela 4.5.5. Equações da reta obtida dos dados transformados da microscopia óptica pelo modelo de Richards	97
Tabela 4.5.6. Análise do diâmetro médio por microscopia óptica e por difração de raio laser	98
Tabela 4.5.7. Resultados da análise densitométrica dos dois granulados	101
Tabela 4.5.8. Análise reológica dos granulados de extrato seco	102
Tabela 4.5.9. Recuperação média e respectivos desvios padrões relativos dos flavonóides presentes nos granulados.	108
CAPÍTULO 4	
Tabela 5.4.3.1. Formulações e técnicas utilizadas no preparo de granulado co-processado de adjuvantes na etapa preliminar e de otimização	122
Tabela 5.4.3.2. Matriz experimental do planejamento fatorial 2 ² com as variáveis naturais e codificadas	125
Tabela 5.5.1. Condições de obtenção dos granulados co-processados de adjuvantes na fase de otimização	133
Tabela 5.5.2. Tabela sinóptica do rendimento e da friabilidade dos granulados co-processados de adjuvantes apresentados nas formulações contendo metilcelulose como aglutinante	135
Tabela 5.5.3. Resultados da análise granulométrica do delineamento fatorial	137
Tabela 5.5.4. Caracterização tecnológica dos granulados	140
Tabela 5.5.5. Características tecnológicas dos comprimidos dos diferentes granulados	144
Tabela 5.5.6. Dados da análise da variância da regressão linear da relação entre umidade e rendimento dos lotes de GRADJ9%DIS	149
Tabela 5.5.7. Dados da análise de regressão linear da relação entre umidade e rendimento dos lotes de GRADJ9%DIS	149
Tabela 5.5.8. Caracterização dos granulados co-processados e padronizados de adjuvantes	151
CAPÍTULO 5	
Tabela 6.5.1. Caracterização tecnológica do Complexo Farmacêutico de PSA40 e PSA80	177
Tabela 6.5.2. Área percentual correspondente aos granulados de adjuvantes após tratamento de imagens nas faces superior e inferior dos CP40 e CP80 produzidos nas diferentes rotações	180

Tabela 6.5.3. Avaliação do peso médio, dimensão espacial, densidade aparente e porosidade dos comprimidos das duas formulações nas diversas velocidades.	185
Tabela 6.5.4. Avaliação das características tecnológicas dos comprimidos e do processo.....	189
Tabela 6.5.5. Uniformidade de conteúdo dos comprimidos obtidos	196
Tabela 6.5.6. Caracterização dos perfis de dissolução dos flavonóides das duas formulações	202
Tabela 6.5.7. Caracterização dos perfis de dissolução dos flavonóides das duas formulações com o modelo de Weibull	204
CAPÍTULO 6	
Tabela 7.4.3.1. Procedimento sequencial da isoterma de sorção-dessorção e soluções saturadas empregadas.	220
Tabela 7.5.1. Teor de umidade de pós e granulados após a desumidificação com gel de sílica na parte inicial e final do estudo	221
CAPÍTULO 7	
Tabela 8.4.3.1. Delineamento geral do experimento de tribologia	243
Tabela 8.5.1. Tempo de desintegração dos comprimidos do estudo tribológico.....	248
Tabela 8.5.2. Parâmetros do modelo de Heckel para os produtos secos por aspersão PSA40, PSA80, celulose microcristalina e fosfato de cálcio diidratado.....	252
Tabela 8.5.3. Parâmetros do modelo de Heckel para os granulados de produtos secos por aspersão GRPSA40 e GRPSA80	254
Tabela 8.5.4. Parâmetros do modelo de Heckel para os complexos farmacêuticos CF40 e CF80.....	256
Tabela 8.5.5. Parâmetros de comprimibilidade dos complexos farmacêuticos CF40, CF80 e da celulose microcristalina	259
Tabela 8.5.6. Parâmetros da regressão linear da compactabilidade dos complexos farmacêuticos e da celulose microcristalina	261
CAPÍTULO 8	
Tabela 9.5.1 Doseamento dos marcadores flavonoídicos na matéria-prima vegetal de <i>Achyrocline satureioides</i>	276
Tabela 9.5.2. Resultados da caracterização das soluções extrativas obtidas a partir das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i>	277
Tabela 9.5.3 Concentração de quercetina, luteolina e 3- <i>O</i> -metilquercetina das soluções extrativas.	279
Table 1 Concentration of quercetin, luteolin and 3- <i>O</i> -methylquercetin in the extractive solutions.	290

Table 2 Linearity data for the flavonoids quercetin; luteolin and 3-O-methylquercetin from the extractive solutions, evaluated by regression analysis	290
Table 3 Repeatability and intermediate precision for the flavonoids quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin from the extractive solutions ES40 and ES80.	291

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 2.5.1. Histograma de distribuição granulométrica dos produtos secos analisados	34
Figura 2.5.2. Histograma de distribuição granulométrica das frequências relativas do PSA40 obtido por difratometria a laser	37
Figura 2.5.3. Histograma de distribuição granulométrica das frequências relativas do PSA80 obtido por difratometria a laser	37
Figura 2.5.4. Fotomicrografias do PSA40	38
Figura 2.5.5. Fotomicrografias do PSA80	38
Figura 2.5.6. Relação entre concentrações dos PSA40 e PSA80 e as respostas do cromatógrafo a líquido de alta eficiência para os flavonóides marcadores.	44
Figura 2.5.7. Cromatogramas dos PSA40 e PSA80 extraídos por extração seletiva com acetato de etila.....	46
Figura 2.5.8. Cromatogramas dos PSA40 e PSA80 extraídos por dissolução com solução hidroalcoólica.	46

CAPÍTULO 2

Figura 3.5.1. Face inferior e face superior de briquete de CF40 nas três coordenadas do padrão RGB.	64
Figura 3.5.2. Comportamento do briquete do CF40 no momento em que o compacto colapsa durante a avaliação da dureza por esmagamento radial.....	68

CAPÍTULO 3

Figura 4.5.1. Perfil da frequência acumulada e da frequência acumulada inversa do GRPSA40 obtidas por tamisação.	92
Figura 4.5.2. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA40 e GRPSA80 por tamisação.	93
Figura 4.5.3. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA80 por microscopia óptica (diâmetro de Ferret).....	95
Figura 4.5.4. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA40 por microscopia óptica (diâmetro de Ferret).....	95
Figura 4.5.5. Fotomicrografias dos granulados de produto seco por aspersão de extrato hidroalcoólico a 40 % (v/v) (GRPSA40).....	106
Figura 4.5.6. Fotomicrografias dos granulados de produto seco por aspersão de extrato hidroalcoólico a 80 % (v/v) (GRPSA80).....	107

Figura 4.5.7. Perfil cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência do GRPSA40	109
Figura 4.5.8. Perfil cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência do GRPSA80	109
CAPÍTULO 4	
Figura 5.5.1. Diagrama de pareto do fatorial da variável de saída rendimento.....	134
Figura 5.5.2. Diagrama de pareto do fatorial da variável de saída friabilidade.	135
Figura 5.5.3. Histograma da distribuição granulométrica dos granulados co-processados de adjuvantes	136
Figura 5.5.4. Fotomicrografias dos granulados co-processados de adjuvantes.....	139
Figura 5.5.5. Rendimento dos lotes dos GRADJ9%DIS	148
CAPÍTULO 5	
Figura 6.5.1. Aspectos da face inferior e face superior do mesmo comprimido de CP40 obtido na rotação de 20 rpm.	179
Figura 6.5.2. Aspectos da face inferior e face superior do mesmo comprimido de CP80 obtido na rotação de 20 rpm.....	179
Figura 6.5.3. Face inferior e face superior do CP40 da rotação de 20 rpm nas três coordenadas do padrão RGB.	184
Figura 6.5.4. Face inferior e face superior do CP80 na rotação de 20 rpm nas três coordenadas do padrão RGB.	184
Figura 6.5.5. Perfil de friabilidade dos comprimidos contendo o complexo farmacêutico de PSA40.	193
Figura 6.5.6. Perfil de friabilidade dos comprimidos contendo o complexo farmacêutico de PSA80.....	193
Figura 6.5.7. <i>Boxplot</i> do tempo de desintegração dos comprimidos das formulações nas diferentes velocidades de compressão.	195
Figura 6.5.8. Perfil cromatográfico por CLAE do CP40 obtido na rotação de 20 rpm	197
Figura 6.5.9. Perfil cromatográfico por CLAE do CP80 obtido na rotação de 20 rpm.	198
Figura 6.5.10. Perfil de dissolução dos flavonóides quercetina, luteolina e 3- <i>O</i> -metilquercetina presentes nos CP40 obtidos na velocidade de rotação de 20 rpm.	198
Figura 6.5.11. Perfil de dissolução dos flavonóides quercetina, luteolina e 3- <i>O</i> -metilquercetina presentes nos CP80 obtidos na velocidade de rotação de 20 rpm.	198
Figura 6.5.12. Fotomicrografias de comprimidos obtidos na velocidade de compressão de 20 rpm dos comprimidos CP40, CP80.....	205

CAPÍTULO 6

- Figura 7.5.1. Formação de aglomerados dos PSA40 e PSA 80 em pesa-filtros observados durante o estudo de higroscopicidade.223
- Figura 7.5.2. Comportamento de amostras de PSA40, GRPSA40 e GRADJ em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.224
- Figura 7.5.3. Comportamento de amostras de PSA80 e GRPSA80 em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.224
- Figura 7.5.4. Comportamento de amostras comprimidos de CF40, obtidos em três velocidades de rotação da máquina de comprimir rotativa em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.229
- Figura 7.5.5. Comportamento de amostras comprimidos de CF80, obtidos em quatro velocidades de rotação da máquina de comprimir rotativa em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.230

CAPÍTULO 7

- Figura 8.5.1. Índice de coesão de comprimidos de CF40 e CF80 sem estearato de magnésio e com a presença do lubrificante nos tempos de mistura de 1,5; 5,0; 15; 30,0 e 60,0 min.247
- Figura 8.5.2. Gráfico de Heckel para o fosfato de cálcio diidratado, celulose microcristalina, e os produtos secos por aspersão PSA40 e PSA80...250
- Figura 8.5.3. Gráfico de Heckel para os granulados de produtos secos por aspersão GRPSA40 e GRPSA80.253
- Figura 8.5.4. Gráfico de Heckel para os granulados de adjuvantes GRADJ9%DIS e GRADJ9%EXT.255
- Figura 8.5.5. Gráfico de Heckel para os complexos farmacêuticos CF40 e CF80...255
- Figura 8.5.6. Comprimibilidade da celulose microcristalina e dos complexos farmacêuticos CF40 e CF80.258
- Figura 8.5.7. Compactabilidade dos complexos farmacêuticos CF40 e CF80.....260

CAPÍTULO 8

- Figura 9.5.1. Cromatograma da fração flavonoídica de *A. saturoioides*, analisada pelo método validado por CLAE276
- Figure 1. Chromatographic profile of the extractive solutions ES80 and ES40.....289

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AT	Análise por tamisação
BF40SA	Complexo farmacêutico para produção de briquetes de PSA40 sem adição de amidoglicolato de sódio
BF40	Complexo farmacêutico para produção de briquetes de PSA40
BF80	Complexo farmacêutico para produção de briquetes de PSA80
CF40	Complexo farmacêutico constituído de GRPSA40 e GRADJ40
CF80	Complexo farmacêutico constituído de GRPSA80 e GRADJ80
CP40	Comprimidos produzidos a partir de CF40.
CP80	Comprimidos produzidos a partir de CF80
DL	Difratometria a laser
EXaq	solução extrativa aquosa produzida por decocção
EX40	solução extrativa hidroalcoólica a 40 % (v/v) por maceração
EX80	solução extrativa hidroalcoólica a 80 % (v/v) por maceração
GRADJ	Granulado co-processado de adjuvantes produzido por via úmida
GRADJ6%DIS	GRADJ constituído de 6 % de aglutinante adicionado em dispersão coloidal
GRADJ6%EXT	GRADJ constituído de 6 % de aglutinante adicionado de modo extemporâneo
GRADJ9%DIS	GRADJ constituído de 9 % de aglutinante adicionado em dispersão coloidal
GRADJ9%EXT	GRADJ constituído de 9 % de aglutinante adicionado de modo extemporâneo
GRADJ40	GRADJ9%DIS calibrado conforme a distribuição granulométrica do GRPSA40
GRADJ80	GRADJ9%DIS calibrado conforme a distribuição granulométrica do GRPSA40
GRPSA40	Granulado produzido por via seca por desagregação a partir de PSA40
GRPSA80	Granulado produzido por via seca por desagregação a partir de PSA80
MO	Microscopia óptica
PSA40	Produto seco por aspersão obtido a partir de solução extrativa hidroalcoólica a 40 % (v/v) das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i>
PSA80	Produto seco por aspersão obtido a partir de solução extrativa hidroalcoólica a 80 % (v/v) das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Relevância do tema	1
1.2 Objetivo geral	3
1.3 Revisão do tema	3
1.4 Referências	8
2 CAPÍTULO 1: Caracterização dos produtos secos por aspersão PSA40 e PSA80	17
2.1 Relevância do tema	17
2.2 Objetivos específicos	18
2.3 Revisão do tema	18
2.4 Parte experimental	21
2.5 Resultados e discussão	29
2.6 Conclusões	49
2.7 Referências	49
3 CAPÍTULO 2: Produção e caracterização dos briquetes	55
3.1 Relevância do tema	55
3.2 Objetivo específico	56
3.3 Revisão do tema	56
3.4 Parte experimental	57
3.5 Resultados e discussão	62
3.6 Conclusões	74
3.7 Referências	75
4 CAPÍTULO 3: Granulação por via seca por desagregação e caracterização dos produtos resultantes	79
4.1 Relevância do tema	79
4.2 Objetivos específicos	80
4.3 Revisão do tema	80
4.4 Parte experimental	82
4.5 Resultados e discussão	88
4.6 Conclusões	110
4.7 Referências	110
5 CAPÍTULO 4: Desenvolvimento, otimização e caracterização dos granulados co-processados de adjuvantes	115
5.1 Relevância do tema	115
5.2 Objetivos específicos	116
5.3 Revisão do tema	116
5.4 Parte experimental	120
5.5 Resultados e discussão	131
5.6 Conclusões	152
5.7 Referências	153
6 CAPÍTULO 5: Produção e caracterização de comprimidos advindos dos produtos secos por aspersão PSA40 e PSA80	157
6.1 Relevância do tema	157

6.2 Objetivo específico	158
6.3 Revisão do tema	158
6.4 Parte experimental	169
6.5 Resultados e discussão	176
6.6 Conclusões	206
6.7 Referências	208
7 CAPÍTULO 6: Isotermas de sorção e dessorção de umidade.....	215
7.1 Relevância do tema	215
7.2 Objetivo específico	215
7.3 Revisão do tema	215
7.4 Parte experimental	218
7.5 Resultados e discussão	221
7.6 Conclusões	230
7.7 Referências	231
8 CAPÍTULO 7: Física da compressão	235
8.1 Relevância do tema	235
8.2 Objetivos específicos	235
8.3 Revisão do tema	236
8.4 Parte experimental	242
8.5 Resultados e discussão	246
8.6 Conclusões	262
8.7 Perspectivas.....	262
8.8 Referências	263
9 CAPÍTULO 8: Validação do método analítico	267
9.1 Relevância do tema	267
9.2 Objetivos específicos	268
9.3 Revisão do tema	268
9.4 Parte experimental	269
9.5 Resultados e discussão	274
9.6 Conclusões	282
9.7 Referências	283
9.8 Manuscrito para publicação científica	286
10 DISCUSSÃO GERAL	293
11 CONCLUSÃO GERAL.....	301
12 REFERÊNCIAS FINAIS.....	303

1 INTRODUÇÃO

1.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

O emprego de plantas medicinais com fins terapêuticos se insere dentro da medicina tradicional sendo coetâneo da própria história da raça humana. Com a revolução industrial coadunada ao desenvolvimento da química orgânica e o desenvolvimento de novos sistemas de atenção à saúde, o uso quase exclusivo desta terapêutica foi paulatinamente cedendo lugar ao emprego de fitofármacos, seus derivados ou de fármacos sintéticos. As razões para essa substituição se devem à simplificação posológica e do gerenciamento do resultado terapêutico, ao mais fácil controle de qualidade e obtenção, que permitiu maior produtividade e produção em escala com aumento da lucratividade das empresas industriais farmacêuticas. Outrossim, de um ponto de vista antropológico, auxiliou a permuta de conceitos de saúde e culturas que se contrapunham ao novo *modus vivendi* das sociedades ocidentais industrializadas (RATES, 2001; LAPA e col., 2003; WORLD, 2002).

A despeito dessa radical mudança de paradigma, aproximadamente 25 % das substâncias ativas prescritas no mundo todo são originárias de plantas e uma significativa gama de fármacos é sintetizada a partir de precursores naturais. Inegavelmente sempre existiu uma substancial parcela da população mundial que por motivos pecuniários, culturais ou de baixa possibilidade de acesso aos serviços institucionais de saúde ainda trata suas enfermidades com plantas medicinais (CALIXTO, 2000; RATES, 2001; WORLD, 2002).

Nas últimas décadas, devido a um escasseamento de novas moléculas bioativas, maiores exigências de controle e da comprovação de segurança e eficácia de medicamentos fitoterápicos, crença na inocuidade do produto natural e insatisfação com a terapia convencional, o mercado da fitoterapia está em franco crescimento e o interesse do meio científico está sendo retomado. Outrossim, deve-se considerar que para algumas doenças complexas, as plantas medicinais representam uma fonte inestimável de novas entidades químicas, visto que contêm estruturas moleculares

privilegiadas pela seleção natural ao longo de milhões de anos (CALIXTO, 2000; CALIXTO, 2005).

Esse aumento no interesse se faz presente no cenário nacional cuja biodiversidade de espécies vegetais, aliada à variedade cultural e étnica, evidencia uma grande potencialidade ainda pouco explorada (BRASIL, 2006a). O despertar também do interesse da indústria farmacêutica brasileira, advinda da lucratividade, possibilita aumentar o investimento na pesquisa desta área e, por conseguinte, favorecer uma salutar retroalimentação com produção de medicamentos de qualidade.

Ampliação do consumo levou a normatização do setor com implementação e constante revisão de normas técnicas para produção e comercialização de medicamentos, visando garantir a segurança, eficácia terapêutica e especificações técnicas constantes e reprodutíveis destes medicamentos (FREITAS, 2007). A RDC ANVISA nº 48/2004, vigente no Brasil, normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos, enumerando os requisitos necessários que, afora as particularidades quanto à eficácia e à segurança, equipara-se às exigências de controle de qualidade feitas aos medicamentos sintéticos (BRASIL, 2004).

Um grande passo no desenvolvimento da fitoterapia no Brasil foi à aprovação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que estabelece diretrizes e linhas prioritárias para o desenvolvimento de ações pelos diversos parceiros em torno de objetivos comuns voltados à garantia do acesso seguro e ao uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, ao desenvolvimento de tecnologias e inovações, assim como fortalecimento das cadeias e dos arranjos produtivos, ao uso sustentável da biodiversidade e ao desenvolvimento do Complexo Produtivo da Saúde (BRASIL, 2006b; BRASIL, 2006a). Tal política foi recentemente consolidada por meio da aprovação de Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos que define ações, prazos, recursos, responsabilidades dos gestores e envolvidos nas diversas esferas de atuação, para o desenvolvimento e implementação de suas diretrizes (BRASIL, 2008).

1.2 OBJETIVO GERAL

Avaliar dois produtos secos por aspersão, obtidos a partir das soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % e 80 % das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae, quanto ao desempenho no processo de obtenção de comprimidos.

1.3 REVISÃO DO TEMA

A despeito das inúmeras estratégias na obtenção de substâncias ativas, a etnofarmacologia ainda se constitui num valioso atalho e possibilita uma integração entre o conhecimento popular e o conhecimento gerado a partir do método científico. Quanto a este aspecto a marcela ou macela (*Achyrocline satureioides* Lam. DC.), planta símbolo do estado do Rio Grande do Sul, possui posição de destaque (ESTADO, 2002). Esta espécie vegetal é nativa da região sudeste subtropical e temperado da América do Sul e tem seu emprego popular, principalmente, como antiinflamatório (interno e externo), antiespasmódica, eupéptica, colagoga, emenagoga, antisséptica (externo) e hipolipidemiante (SIMÕES e col.,1998).

Estudos empregando modelos *in vitro* ou *in vivo* em animais confirmaram a potencialidade das sumidades florais de *Achyrocline satureioides*, atestando diversas atividades biológicas e farmacológicas. Dentre essas podem ser destacadas as ações antiinflamatória (SONAGLIO, 1987; SIMÕES, 1988; SIMÕES e col., 1988, SCHAPOVAL e col., 1994; CAMARGO e col., 1994; TEIXEIRA, 1996; DE SOUZA e col., 2007; HOLZSCHUH, 2008), imunomoduladora (WAGNER e col., 1985; PUHLMAN, 1989; PUHLMAN e col., 1992; SANTOS e col., 1999; CALVO e col., 2006; CONSENTINO e col., 2008), antioxidante, pró-oxidante e sequestradora de radicais livres (DESMARCHELIER e col., 1998; DE SOUZA, 2002; GUGLIUCCI e MENINI, 2002b; POLYDORO e col., 2004), citoprotetora (ARREDONDO e col., 2004), hepatoprotetora (KADARIAN e col., 2002), citotóxica frente à carcinoma hepatocelular humano (RUFFA e col., 2002), antiespasmódica (LANGELOH e SCHENKEL, 1985; SIMÕES e col., 1988; SILVA, 1993; LEMOS-SENNA, 1993; FILOT DA SILVA e LANGELOH, 1994), vaso-relaxante (HNATYSZIN e col., 2004), antiviral (SIMÕES, 1992; ZANON e col., 1999; BETTEGA e col., 2004),

antiglicante e hipoglicemiante (GUGLIUCCI E MENINI, 2002a; CARNEY e col., 2002), inseticida, tripanossomicida e giardicida (ROJAS DE ARIAS e col., 1995; BRANDELLI e col., 2009), antimicrobiana (GUTKIND e col., 1981; ANESINI e PEREZ, 1993; CALVO e col., 2006), analgésica e sedativa (SIMÕES e col., 1988), fotoprotetora para aplicação tópica (MORQUIO e col., 2005) e indutora de diferenciação neuronal (BLASINA e col., 2009).

As atividades citadas são relacionadas basicamente com a presença de flavonóides (SIMÕES, 1984; DE SOUZA, 2002) ou de heteroglicanos (WAGNER e col., 1985; PUHLMAN, 1989; PUHLMAN e col., 1992).

A avaliação da toxicidade aguda do decocto aquoso foi realizada por Rivera e col. (2004) em ensaio pré-clínico com roedores por administração intraperitoneal e oral. Os resultados corroboram com os estudos preliminares de toxicidade aguda de Sonaglio (1987) e Simões e col. (1988) atestando inocuidade dos extratos nas concentrações empregadas via intraperitoneal (30 – 500 mg/kg). Estes últimos pesquisadores empreenderam o estudo com extrato macerado (aquoso e etanólico) e decocto (aquoso), enquanto Sonaglio empregou a solução extrativa hidroalcoólica a 80 % (v/v) otimizada. O LD₅₀ não pode ser empregado devido à ausência de mortalidade nas concentrações usadas (SONAGLIO, 1987; SIMÕES e col., 1988; RIVERA e col., 2004), a despeito disso por via oral a LD₅₀ foi de 16 g/kg não havendo nenhum sinal de intoxicação (comportamental ou anatômica) até a concentração de 5 g/kg (RIVERA e col., 2004).

A toxicidade celular também foi avaliada e resultados divergentes são apresentados para extratos de *Achyrocline satureioides* (POLYDORO e col., 2004; ARREDONDO e col., 2004). Polydoro e col. empregaram extrato hidroalcoólico a 80 % (v/v) e fração enriquecida de flavonóides que demonstraram citotoxicidade em cultura de células de Sertoli. Arredondo e col. utilizando extrato a partir de infusão aquosa observaram citoproteção de células PC12 contra estresse oxidativo. Estes resultados contraditórios se devem pelos menos em parte às diferenças na obtenção dos extratos, que resultam em diferentes concentrações flavonoídicas, e nos modelos

de citoproteção e citotoxicidade empregados. Extratos aquosos de *A. saturoioides* também foram avaliados quanto à genotoxicidade e evidenciaram mutagenicidade às cepas TA100, TA98 e T102 de *Salmonella typhimurium* pelo teste de Ames (VARGAS e col., 1991). Desta forma, testes adicionais de toxicidade crônica nos diferentes extratos devem ser realizados a fim de que se possa avaliar a pertinência destes resultados *in vitro*.

Além da variabilidade inerente da matéria-prima vegetal, e de fatores ligados à coleta, secagem e armazenamento, a constituição da solução extrativa empregada pode modificar o perfil fitoquímico, assim como a sua farmacologia. As variáveis do processo de secagem da solução extrativa e a inclusão de adjuvantes acrescentam complexidade visto que estes podem interferir, entre outros parâmetros, na estabilidade e biodisponibilidade.

De Souza e col. (2007) compararam três soluções extrativas oriundas de decocto aquoso, macerados hidroalcoólicos a 40 % e a 80 % (v/v) quanto à atividade antiinflamatória por via oral empregando o modelo de edema de pata de rato induzido por carragenina. Igualmente foram comparados os métodos de secagem por liofilização e por aspersão (*spray drying*) com a avaliação, respectivamente, da influência dos adjuvantes polissorbato 80 e dióxido de silício coloidal. O extrato com polaridade intermediária apresentou a mais pronunciada atividade antiinflamatória tanto no liofilizado quanto no produto seco por aspersão (PSA). O extrato hidroetanólico a 80 % (v/v) teve sua atividade antiinflamatória potencializada com a adição de polissorbato no liofilizado, sendo estes resultados equivalentes à atividade apresentada pelo PSA do mesmo extrato. Similar comportamento ocorreu com acréscimo de polissorbato 80 no PSA de quercetina, flavonóide presente nas soluções extrativas. Os autores atribuem a maior potência do extrato hidroetanólico a 40 % (v/v) e ao efeito do polissorbato à possível interação aditiva ou sinérgica entre os flavonóides e os polissacarídeos. Outrossim, a avaliação da mobilidade leucocitária foi avaliada em modelo de pleurisia em ratos, induzida por carragenina, e mostrou inibição quando comparado ao controle, para os extratos hidroetanólicos testados. Polydoro e col. (2004) demonstraram, no entanto, maior atividade antioxidante para o

lioofilizado de extrato hidroetanólico a 80 % (v/v) justificando a continuidade do seu estudo.

O desenvolvimento tecnológico de fitoterápicos visa à obtenção de formas farmacêuticas com preservação e valorização do potencial terapêutico do vegetal (BASSANI, 1990). Em vista do cabedal de conhecimento popular, no ano de 1981 foram iniciadas pesquisas no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) envolvendo estudos fitoquímicos, farmacológicos, biotecnológicos, tecnológicos e de controle de qualidade de *A. satureioides* (Lam.) D.C. (HENRIQUES e LINCK, 1996).

Ao longo de mais de duas décadas de intensivos estudos tecnológicos sobre *A. satureioides*, padronizou-se o processo extrativo das sumidades floridas (SONAGLIO, 1987), extratos secos foram desenvolvidos através de secagem por *spray drying* (BASSANI, 1990; LEMOS-SENNA, 1993; TEIXEIRA, 1996), produziram-se soluções extrativas aquosas com avaliação da atividade biológica das mesmas (SIMÕES, 1984; SANTOS, 1996; DE SOUZA, 2002), formas farmacêuticas semi-sólidas foram elaboradas a partir de solução extrativa e de PSA (KNORST, 1991; DE PAULA, 1996; DA SILVA, 2003), ação antiinflamatória, antioxidante e imunomoduladora de diversas preparações obtidas das inflorescências foram investigadas (DE SOUZA, 2002), desenvolveu-se granulado revestido contendo alta concentração de PSA40 (PETROVICK, 2006), nanoemulsões contendo solução extrativa foram engendradas (ZORZI, 2007) e avaliou-se a estabilidade dos PSA40 e PSA80 (HOLZSCHUH, 2008).

As formas sólidas apresentam uma série de vantagens sobre as formas líquidas, tais como maior estabilidade e menor volume por dose, o que conduz a maior simplicidade de conservação, transporte e armazenamento. Somam-se a estas vantagens a facilidade de manuseio e a versatilidade de dosagem (VILA JATO, 2001). Dentre as formas farmacêuticas sólidas, o comprimido é a de utilização mais proeminente podendo ser uma ótima e inovadora opção na produção deste fitoterápico, visto que grande parte dos estudos pré-clínicos (TEIXEIRA, 1996; DE SOUZA e col.,

2007; RIVERA e col., 2004; HOLZSCHUH, 2008) e etnofarmacológicos (SIMÕES e col., 1998) que envolvem extratos de *A. satureioides* se utilizam da via oral para administração.

O desenvolvimento de comprimidos por compressão direta, apesar da redução de custos no processo e da eliminação de etapas, exige que a formulação possua boas propriedades compressionais e reológicas. Extratos secos vegetais, comumente, são constituídos de partículas pequenas com baixa densidade, instabilidade de empacotamento, reologia deficiente, higroscopicidade e deformação predominantemente plástica. Soma-se a estes aspectos a elevada quantidade a ser administrada. A melhoria tecnológica da formulação, com o acréscimo de adjuvantes para compressão direta (ex. celulose microcristalina e lactose *spray dried*) ou multifuncionais, é limitada para proporções de extrato seco vegetal que excedam 10 % da massa total da formulação (VENNAT e col., 1993; BOLHUIS e CHOWHAN, 1996). Desta forma, a escolha da granulação como etapa intermediária é natural. Petrovick (2006) desenvolveu granulados por via seca a partir da desagregação de briquetes com alto percentual ponderal de PSA40. Quando comparados ao PSA que lhes deu origem, foi constatada considerável melhora nas características tecnológicas.

Há uma gama de potencialidades farmacológicas para os extratos de *A. satureioides* das quais as ações antiinflamatória, antioxidante e imunomoduladora merecem destaque. A atividade antiinflamatória exige pronta ação, necessitando uma rápida disponibilidade. Outrossim, uma prolongada desintegração pode acarretar na diminuição da absorção dos constituintes ativos e, por conseguinte, diminuição da eficiência antioxidante e imunomoduladora. Uma das estratégias para obter comprimidos de liberação imediata é a presença de desintegrante na formulação podendo estar contido na fase interna, externa ou em ambas (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002). Em se tratando de granulados, a presença de desintegrante pulveréneo na fase externa pode acarretar segregação particular no complexo farmacêutico e perfis de desintegração e dissolução com baixa reprodutibilidade no produto final. Uma alternativa é a produção de granulados co-processados de adjuvantes com a mesma

distribuição granulométrica que a matéria-prima ativa. A produção de tais granulados exige, necessariamente, estudos de pré-formulação e formulação (COUTO, 2005).

A fim de garantir a qualidade do produto final, faz-se necessário o controle de qualidade ao longo de todas as etapas intermediárias. A quantificação dos marcadores e/ou componentes ativos é primordial e possibilita avaliar a influência dos processos empregados na integridade dos mesmos. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a ferramenta analítica mais utilizada para separação e quantificação de flavonóides, sendo empregada em extratos de *Achyrocline satureioides* desde os primeiros estudos tecnológicos (SONAGLIO, 1987). De Souza e col. (2002) desenvolveram pela primeira vez método validado por CLAE que conseguiu separar os marcadores quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina. Este método vem sendo empregado, a despeito do longo tempo de corrida e da resolução ainda baixa entre os flavonóides luteolina e 3-*O*-metilquercetina.

As máquinas de comprimir instrumentalizadas ou simuladores têm possibilitado um salto nos estudos de compressão, pois proporcionam a aquisição de variáveis físicas durante o ciclo compressional como, por exemplo, da força aplicada e do deslocamento dos punções. Tais informações possibilitam avaliar o comportamento das partículas e o mecanismo de densificação de pós ou granulados. Sendo assim, estudos do comportamento compressional são importantes ferramentas na avaliação da capacidade de complexos farmacêuticos oriundos de extrato seco vegetal sob forma de pó ou granulado transformarem-se em comprimidos, bem como na seleção das propriedades críticas dos adjuvantes empregados (PARONEN e ILKKA, 1996; SOARES e PETROVICK, 1999; FICHTER e col., 2005).

1.4 REFERÊNCIAS

- ANESINI, C.; PEREZ, C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 39, p. 119-128, 1993.
- ARREDONDO, M.F.; BLASINA, F.; ECHEVERRY, C.; MORQUIO, A.; FERREIRA, M.; ABIN-CARRIQUIRY, J.A.; LAFON, L.; DAJAS, F. Cytoprotection by *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. and Some of its main flavonoids against oxidative stress. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, p. 13-20, 2004.

BASSANI, V. L. **Valorisation de formes galéniques végétales désalcoolisation et concentration des solutions extractives sur membrane d'osmose inverse**. 1990. 264p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Montpellier: Faculté de Pharmacie, 1990.

BETTEGA, J.M.R.; TEIXEIRA, H.; BASSANI, V.L.; BARARDI, C.R.M.; SIMÕES, C.M.O. Evaluation of the antiherpetic activity of standardized extracts of *Achyrocline satureioides*. **Phytotherapy Research**, v. 18, p. 819-823, 2004.

BLASINA, M.F.; VAAMONDE, L.; MORQUIO, A.; ECHEVERRY, C.; ARREDONDO, F.; DAJAS, F. Differentiation induced by *Achyrocline satureioides* (Lam) infusion in PC12 cells. **Phytotherapy Research**, v. 29, n. 9, p. 1263-1269, 2009.

BOLHUIS, G.K.; CHOWHAN, Z.T. Materials for direct compaction. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap 14, p. 419 – 500.

BRANDELLI, C.L.C.; GIORDANI, R.B.; DE CARLI, G.A.; TASCA, T. Indigenous traditional medicine: in vitro anti-giardial activity of plants used in the treatment of diarrhea. **Parasitology Research**, v. 104, n. 6, p. 1345-1349, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada nº 48 de 16 de março de 2004. Dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Série B – Textos básicos de saúde. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 60p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Decreto nº 5.813, 22 de junho de 2006. Aprova a política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2006b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria Interministerial nº 2.960, 9 de dezembro de 2008. Aprova o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e cria o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 2008.

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, p. 179-189, 2000.

CALIXTO, J.B. Twenty-five years of research on medicinal plants in Latin America: A personal view. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 100, p. 131-134, 2005.

CALVO, D.; CARIDDI, L.N.; GROSSO, M.; DEMO, M.S.; MALDONADO, A.M. *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Marcela): Antimicrobial activity on *Staphylococcus* spp. and immunomodulating effects on human lymphocytes. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 48, n. 3-4, p. 247-255, 2006.

CAMARGO, C.H.F.; LOBO, G.S.; SIMÕES, C.M.O.; GABILAN, N.H.; NICOLAU, N. Avaliação da atividade antiinflamatória do extrato bruto (EB) de *Achyrocline satureioides* (marcela) no extravasamento plasmático (EP) induzido pela bradicinina e substância P em ratos conscientes. In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS, 12. 1994, Fortaleza. **Resumos...** Fortaleza, UFC, 1994. N. 316.

CARNEY, J.R.; KRENISKY, J.M.; WILLIAMSON, T.; LUO, J. Achyrofuran, a new antihyperglycemic dibenzofuran from the South American medicinal plant *Achyrocline satureioides*. **Journal of Natural Products**, v. 65, n. 2, p. 203-205, 2002.

CONSENTINO, M.; BOMBELLI, R.; CARACANO, E.; LUINI, A.; MARINO, F.; CREMA, F.; DAJAS, F.; LECCHINI, S. Immunomodulatory properties of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. infusion: a study on human leukocytes. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 116, p. 501-507, 2008.

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

DA SILVA, D. M. **Desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida contendo extrato padronizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2003.

DE PAULA, I. C. **Desenvolvimento tecnológico da forma farmacêutica plástica, contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC Compositae - Marcela.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

DE SOUZA, K. C. B.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BASSANI, V. L. LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.28, p.771-777, 2002.

DE SOUZA, K. C. B. **Avaliação biológica de preparações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela).** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

DE SOUZA, K.C.B.; BASSANI, V.L.; SCHAPOVAL, E.E.S. Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. extracts by oral route. **Phytomedicine**, v. 14, p. 102-108, 2007.

DESMARCHELIER, C.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. Antioxidant and free radical scavenging effect in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. ("marcela"). **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 31, p. 1163-1170, 1998.

ESTADO do Rio Grande do Sul. Assembléia Legislativa. Gabinete de Consultoria Legislativa. Lei nº 11.858, de 5 de dezembro de 2002. Institui a Planta medicinal Símbolo do Estado do Rio Grande do Sul e dá outras providências. **Diário Oficial do Estado** nº 235, de 6 de dezembro de 2002.

FICHTNER, F.; RASMUSON, A.; ALDERBORN, G. Particle size distribution and evolution in tablet structure during and after compaction. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 292, n. 1-2, p. 211-225, 2005.

FILOT DA SILVA, L.; LANGELOH, A. A comparative study of antispasmodic activity of hydroalcoholic 80 % (v/v) extracts of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae) with papaverine and atropine on rat isolated jejunum. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 13, n. 1, p. 35-40, 1994.

FREITAS, A. **Estrutura de Mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira**. Ministério da Saúde – Núcleo Nacional de Economia da Saúde: Brasília, 2007.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. The botanical extracts of *Achyrocline satureioides* and *Ilex paraguariensis* prevent methylglyoxal-induced inhibition of plasminogen and antithrombin III. **Life Sciences**, v. 72, p. 279-292, 2002a.

GUGLIUCCI, A.; MENINI, T. Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*. **Life Sciences**, v. 71, p. 693-705, 2002b.

GUTKIND, G.O.; MARTINI, V.; GRAÑA, N.; COUSSIO, J.D.; TORRES, R.A. Screening of South American plants for biological activities. 1. Antibacterial and antifungal activity. **Fitoterapia**, v. 5, p. 213-218, 1981.

HENRIQUES, A. T.; LINCK, V.O. (Org.) **A produção científica da Faculdade de Farmácia: Universidade Federal do Rio Grande do Sul 1985-1995**. Porto Alegre: Palotti, 1996.

HNATYSZYN, O.; MOSCATELLI, V.; RONDINA, R.; COSTA, M.; ARRANZ, C.; BALASZCZUK, A.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig corpus cavernosum. **Phytomedicine**, v. 11, p. 366-369, 2004.

HOLZSCHUH, M. B. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

KADARIAN, C.; BROUSSALIS, A.M.; MIÑO, J.; LOPEZ, P.; GORZALCZANY, S., FERRARO, G.; ACEVEDO, C. Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. **Pharmacological Research**, v. 45, n. 1, p. 57-61, 2002.

KNORST, M. T. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1991.

LANGELOH, A.; SCHENKEL, E.P. Atividade antiespasmódica de extrato alcoólico de marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Compositae) sobre a musculatura lisa genital de ratos. **Caderno de Farmácia**, v. 1, p. 38-44, 1985.

LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; LIMA-LANDMAN, M.T.R.; GODINHO, R.O.; DE LIMA, T.C.M. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. In: Simões, C.M.O. e col. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS / Editora da UFSC, 2003, v. , p. 247-262.

LEMOSENNA, E. M. T. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

MORQUIO, A.; RIVERA-MEGRET, F.; DAJAS, F. Photoprotection by topical application of *Achyrocline satureioides* ('Marcela'). **Phytotherapy Research**, v. 19, p. 486-490, 2005.

PARONEN, P.; ILKKA, J. Porosity-pressure functions. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology.** New York: Marcel Dekker, 1996. Cap 3, p. 55 – 75.

PETROVICK, G. F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae (marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

POLYDORO, M.; DE SOUZA, K.C.B.; ANDRADES, M.E.; DA SILVA, E.G.; BONATTO, F.; HEYDRICH, J.; DAL-PIZZOL, F.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L. e MOREIRA, J.C.F. Antioxidant, a pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline satureioides* extracts. **Life Sciences**, v. 74, p. 2815-2826, 2004.

PUHLMANN, J. **Immunologisch aktive Polysaccharide aus den Herboldrogen von *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. und *Arnica montana* L. sowie aus *Arnica montana* L. Zellkulturen.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Institut für Chemie und Pharmazie, Ludwig-Maximilian Universität, München, 1989.

PUHLMANN, J.; KNAUS, U.; TUBARO, L.; SCHAFER, W.; WAGNER, H. Immunologically active metallic ion-containing polysaccharide of *Achyrocline satureioides*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 8, p. 2617-2621, 1992.

RATES, S.M.D. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603-613, 2001.

RIVERA, F.; GERVAZ, E.; SERE, C.; DAJAS, F. Toxicological studies of the aqueous extract from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC (Marcela). **Journal of Ethnopharmacology**, v. 95, p. 359-362, 2004.

RITSCHEL, W. A.; BAUER – BRANDL, A. **Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung.** 2.ed. Aulendorf: ECV, 2002. 647p.

ROJAS DE ARIAS, A.; FERRO, E.; INCHAUSTI, A.; ASCURRA, M.; ACOSTA, N.; RODRIGUEZ, E.; FOURNET, A. Mutagenicity, insecticidal and trypanocidal activity of some Paraguayan Asteraceae. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 45, p. 35-41, 1995.

RUFFA, M.J.; FERRARO, G.; WAGNER, M.L.; CALCAGNO, M.L.; CAMPOS, R.H.; CAVALLARO, L. Cytotoxic effect of Argentine medicinal plant extracts on human hepatocellular carcinoma cell line. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 79, p. 335-339, 2002.

SANTOS, A. L. G. **Estudo tecnológico e biológico de soluções extrativas aquosas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

SANTOS, A.L.G.; RIPOLL, D.; NARDI, N.; BASSANI, V.L. Immunomodulatory effect of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. aqueous extracts. **Phytotherapy Research**, v. 13, p. 65-66, 1999.

SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L.; AZEVEDO, M.C.; ZAMBONI, R. C. Potencia inhibidora de los extractos de *Achyrocline satureioides* sobre los mediadores de la inflamación. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL QUÍMICA DE PRODUTOS NATURALES Y SUS APLICACIONES, 2, Concepcion, Chile, **Resúmenes** ..., 1994.

SILVA, L.F. **Estudo da potência antiespasmódica de extratos hidroalcoólicos 80 % (v/v) de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. e *Achyrocline vauthieriana* DC. – Asteraceae (marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

SIMÕES, C.M.O. **Investigação químico-farmacológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae (marcela)**. Porto Alegre, Dissertação (Mestrado em Farmácia) -: Curso de Pós-graduação em Análise, Síntese e Controle de Medicamentos, UFRGS, Porto Alegre, 1984.

SIMÕES, C.M.O. Antiinflammatory action of *Achyrocline satureioides* extracts applied topically. **Fitoterapia**, v. 49, n. 5, p. 419-421, 1988.

SIMÕES, C.M.O. Estudo da atividade antiviral e das relações estrutura atividade de substâncias naturais. **Caderno de Farmácia**, v. 10, n. 1, p. 31-32, 1992.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Compositae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p. 281-293, 1988.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular no Rio Grande do Sul**, 5 ed. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998, p. 108-109.

SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R. Física da compressão. **Caderno de Farmácia**, v.15, n. 2, p. 65-79, 1999.

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

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 (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

VARGAS, V.M.; GUIDOBONO, R.R.; HENRIQUES, J.A.P. Genotoxicity of plant extracts. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 86, supl. 2, p. 67-70, 1991.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. Tablets of hamamelis dry extract by direct compression: comparative study of natural starches and starch derivatives. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 11, p. 1357-1368, 1993.

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

ZANON, S.M.; CERIATTI, F.S.; ROVERA, M.; SABINI, L.J.; RAMOS, B.A. Search for antiviral activity of certain medicinal plants from Cordoba, Argentina. **Revista Latinoamericana de Microbiologia**, v. 41, p. 59-62, 1999.

WAGNER, V.H.; PROKSCH, A.; RIESS-MAURER, I.; VOLLMAR, A.; ODENTHAL, S.; STUPPNER, H.; JURCIC, K.; LE TURDU, M.; FANG, J.N.

Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (Heteroglykane) aus höheren Pflanzen. **Arzneimittelforschung**, v. 35, n. 7, p. 1069-1075, 1985.

WORLD Health Organization. WHO **Traditional Medicine Strategy** 2002-2005. Geneva, 2002. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/hq/2002/WHO_EDM_TRM_2002.1.pdf>. Acesso em 18.nov. 2009.

2 CAPÍTULO 1: CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS SECOS POR ASPERSÃO PSA40 E PSA80

2.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

As formas sólidas apresentam uma série de vantagens sobre as formas líquidas e semi-sólidas, tais como maior estabilidade e menor volume por dose o que conduz a cuidados de conservação, transporte e armazenamento facilitados. Somam-se a estas a maior simplicidade de manuseio e de dosagem (VILA JATO, 2001). Em se tratando de produtos vegetais, devido à alta susceptibilidade a microorganismos, ao efeito enzimático do próprio maquinário celular vegetal e à presença de compostos foto-, higro- e termolábeis, a obtenção de produtos secos, muitas vezes, se constitui na única alternativa de escolha tecnológica. Dentre os métodos de secagem empregados para extratos vegetais, destaca-se a secagem por aspersão pela sua grande versatilidade.

Uma das grandes vantagens da aplicação do método de secagem por *spray drier* para extratos vegetais, muitas vezes termolábeis, baseia-se no curto tempo de exposição ao calor. O emprego de adjuvantes de secagem com elevada área superficial e a formação de gotículas no aspersor permitem uma maior interface entre o solvente e meio externo tornando possível uma adequada secagem em 5 a 30 segundos (BROADHEAD e col., 1992). O baixo custo e o elevado rendimento por tempo de produção são outras vantagens (LIST e SCHMIDT, 1989; SONAGLIO e col., 2003). A rápida secagem provoca um desordenamento molecular redundando em produtos secos com predominância de estado amorfo (BUCKTON, 2005). Tal fato explica a boa compressibilidade desses materiais.

A despeito dessas vantagens, o baixo diâmetro combinado com a rugosidade e a estrutura oca das partículas faz com que o produto seco por aspersão (PSA) apresente elevada área superficial. Desta maneira, problemas reológicos (apesar da esfericidade), de estabilidade de empacotamento e de higroscopicidade estão, muitas vezes, presentes em PSA de extratos vegetais (COUTO, 2000; SOARES, 2002; PETROVICK, 2006). Outrossim, o estado amorfo dos PSA os tornam mais susceptíveis à absorção de umidade podendo gerar instabilidade química (ex. hidrólise), microbiológica e física

devido ao efeito plastificante da água que pode acarretar em mudança para o estado cristalino (BUCKTON, 2005).

A caracterização completa dos PSA permite contornar problemas tecnológicos decorrentes do seu emprego na produção de briquetes, granulação e compressão final. Para proceder a uma caracterização completa faz-se necessária a quantificação dos marcadores do extrato vegetal, sendo a etapa de extração, prévia ao doseamento, crucial.

A extração completa dos marcadores do PSA pode ser dificultada pela presença de interferentes do próprio extrato e adjuvantes de secagem. A extração do PSA por meio de fracionamento com solvente orgânico, apesar de proporcionar seletiva extração, pode não extrair completamente às substâncias flavonoídicas de interesse.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar tecnologicamente e comparar os dois produtos secos obtidos a partir das soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % e a 80 % (PSA40 e PSA80) das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae visando a sua transformação na forma farmacêutica sólida comprimido.
- Desenvolver método alternativo para o preparo de amostras de PSA40 e PSA80 para cromatografia líquida de alta eficiência.

2.3 REVISÃO DO TEMA

O conhecimento da composição fitoquímica, bem como da atividade biológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (SIMÕES, 1984; SIMÕES e col., 1988) permitiu a padronização de extrato hidroalcoólico a 40 % (v/v) a partir do seu farmacógeno (SONAGLIO, 1987). A fim de evitar a instabilidade inerente das formas farmacêuticas líquidas, Bassani (1990) desenvolveu extratos secos a partir do extrato hidroalcoólico empregando *spray drier* com prévia eliminação do etanol. Embora se

tenha apresentado problema na concentração através da filtração por osmose reversa, a secagem se mostrou promissora.

O desenvolvimento de extratos secos por *spray drying* teve continuidade nos trabalhos de Lemos-Senna (1993) e Teixeira (1996).

Lemos-Senna (1993) confirmou a viabilidade da obtenção de extratos secos por aspersão e usou evaporador rotatório na fase de concentração com consequente eliminação do etanol. No entanto, para a formação de uma suspensão homogênea adequada para *spray drying* necessitou de elevada concentração de polissorbato 80 e de dióxido de silício coloidal.

Teixeira (1996) desenvolveu processo de redução do teor alcoólico com menor concentração de adjuvantes tecnológicos. Igualmente, avaliou a influência dos adjuvantes farmacêuticos celulose microcristalina, β -ciclodextrina e dióxido de silício coloidal sobre as características, físicas, químicas e farmacológicas dos extratos secos obtidos por *spray drying*. O produto seco por aspersão contendo apenas dióxido de silício coloidal e polissorbato 80 apresentou melhores características quanto ao rendimento, umidade residual, recuperação de flavonóides, assim como menor higroscopicidade.

De Souza (2002), partindo do método de extração otimizado por Sonaglio (1987), desenvolveu produto seco por aspersão. Empregando, como adjuvantes de secagem, o dióxido de silício coloidal com ou sem a presença de β -ciclodextrina. O rendimento dos produtos a partir da solução hidroetanólica a 40 % foi inferior ao apresentado pela solução hidroetanólica a 80 %. Os produtos obtidos somente com dióxido de silício coloidal mostraram maior rendimento total, bem como maior concentração dos flavonóides de referência, reafirmando a notória essencialidade deste adjuvante. Tal fato se deve, entre outros fatores, à elevada área superficial específica deste adjuvante, conferindo maior proteção térmica ao material vegetal a ser secado.

Da Silva, em 2003, comparou os produtos secos obtidos em *spray drier* em duas escalas de produção, advindos de solução extrativa hidroetanólica a 40 % (v/v).

Os adjuvantes de secagem usados foram dióxido de silício coloidal associado à celulose microcristalina. A diferença entre os produtos não residiu no rendimento da operação, e sim no diâmetro médio particular que foi de 2 µm e 10 µm, respectivamente, para escala de bancada e piloto. O maior diâmetro se deve, principalmente, à diferença entre os princípios de funcionamento dos aspersores e aos parâmetros de processo (FOSTER e LEATHERMAN, 1995), não apresentando, entretanto, distinção quanto à morfologia dos produtos obtidos.

O desenvolvimento do preparo de amostras para análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a recuperação dos flavonóides marcadores do PSA de extratos de *Achyrocline satureioides* já foram temas de trabalhos anteriores.

Lemos-Senna (1993) desenvolveu um método de preparo de amostras para CLAE que foi utilizado, com poucas modificações, por Teixeira (1996). Empregou-se acetato de etila durante 2 horas sob agitação magnética. O solvente orgânico é o mesmo usado na etapa de fracionamento na obtenção do teor de flavonóides totais. Utilizou-se o acetato de etila com objetivo de selecionar as agliconas flavonoídicas.

Teixeira (1996) não constatou problemas na recuperação do PSA80 com presença exclusiva dos adjuvantes dióxido de silício coloidal e polissorbato, muito embora, tenha empregado outro método analítico, o teor de flavonóides totais. Este método espectrofotométrico de doseamento tem sido objeto de crítica (DE SOUZA, 1997; DA SILVA, 1999), sendo suplantado pela quantificação mais precisa de compostos advinda da CLAE. O emprego de acetato de etila durante a análise do teor de flavonóides totais pode resultar, semelhantemente, em erro devido a não extração total das agliconas. Além disso, nesse trabalho se comparou o PSA com sua solução extrativa hidroalcoólica a 80 % (v/v), o que pode redundar em outros erros analíticos.

De Souza (2002) empregou o flavonóide quercetina, isoladamente, na produção de produto seco por aspersão com e sem o adjuvante dióxido de silício coloidal acrescido ou não de β-ciclodextrina. Embora o rendimento do PSA de quercetina, como era esperado, tenha sido claramente superior com a presença de adjuvante de secagem, o seu grau de recuperação foi de apenas de 47,28 % utilizando CLAE. A

explicação dada foi relativa à extração deficiente do flavonóide quercetina na presença do dióxido de silício coloidal (erro específico), bem como erros inerentes ao método de extração usado.

Da Silva (2003) obteve elevado grau de recuperação do flavonóide 3-*O*-metilquercetina para o PSA40 obtido em escalas piloto e laboratorial, comparado com a solução extrativa. Entretanto, o PSA40 apresentava, juntamente, com o dióxido de silício coloidal e polissorbato, a presença de celulose microcristalina, que pode alterar a dinâmica do processo extrativo. Além disso, os cromatogramas não demonstraram boa separação entre os flavonóides luteolina e 3-*O*-metilquercetina.

Holzschuh (2008) avaliou os PSA40 e PSA80 preparados, respectivamente, a partir de soluções extrativas hidroetanólica a 40 % e a 80 % (v/v) quanto à estabilidade frente à temperatura e à luz. A quantificação dos flavonóides das amostras utilizou o CLAE, sendo o preparo da amostra realizado conforme Teixeira (1996). O estudo do PSA40 e PSA80, sob condições de estresse, revelou aumento substancial da quercetina do segundo até o sétimo dia com percentuais que chegaram a 196 % para o PSA40 e 142 % para o PSA80. O mesmo fenômeno não ocorreu com a luteolina e a 3-*O*-metilquercetina. A hipótese de elevação da concentração da quercetina, devido à formação da mesma a partir da degradação da substância denominada P3 (bichalcona), não foi confirmada pela elucidação estrutural da molécula. Da mesma forma, a atividade antiinflamatória não apresentou diferença significativa entre o PSA40 e o PSA40 submetido ao testes de estresse (com maior concentração de quercetina).

2.4 PARTE EXPERIMENTAL

2.4.1 Materiais

O PSA40 e PSA80 utilizados neste trabalho foram obtidos, respectivamente, por Petrovick (2006) e Holzschuh (2008). Na difatrometria por raio laser as amostras foram dispersas em silicone líquido (350 CTKS, fornecido por Delaware, Porto Alegre/Brasil). Para o método de preparo de amostras para a CLAE o etanol (96 % v/v, Nuclear, São Paulo/Brasil) foi empregado. Os solventes usados para o sistema cromatográfico foram metanol (grau HPLC, J. T. Baker, Cidade do México/México),

ácido ortofosfórico (pró-análise, Merck, Darmstadt/Alemanha), acetonitrila (grau HPLC, J. T. Baker, Cidade do México/México) e água ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA). Os padrões flavonoídicos utilizados foram luteolina (97 % pureza, Alfa Aesar, Ward Hill/EUA, lote 10054013) e quercetina (pró-análise, Sigma Aldrich, St. Louis/EUA, lote 90K1746). Na determinação do teor de água se empregou reagente de Karl Fischer para determinação coulométrica de água para células sem diafragma em solução metanólica (Merck, Darmstadt/Alemanha). As soluções tampão de pH 6,86 e 4,01; respectivamente, DM-S1A e DM-S1B (Digimed, São Paulo/ Brasil) foram empregadas na determinação do pH.

2.4.2. Equipamentos¹, acessórios e correlatos

Analizador de área superficial específica QuantaChrome Autosorb-1 (LACER/UFRGS)¹;

Analizador de umidade por infra-vermelho Gehaka IV-2000;

Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu, equipado com bomba LC-10AD, injetor automático SIL-10A e detector UV/Vis SPD-20 AV, controlado pelo programa CLASS LC-10;

Aparelho de Karl Fischer DL37, Mettler Toledo (LAPPS, UFRGS)¹;

Banho de ultra-som Ultra Cleaner 1400 A, Unique;

Coluna cromatográfica Phenomenex (EUA) de aço inoxidável Synergi Polar-RP 4 µm, 150 x 4,6 mm d.i.;

Centrifuga Janetzki T32_A;

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)¹;

Difratrômetro de laser Cilas 1180 (LACER/UFRGS)¹;

Estufa DeLeo (LACER/UFRGS)¹;

Evaporador rotatório Rotavapor Büchi modelo R-114;

Forno para colunas de Clae Hot Column, Cromacon Ciola (CDTF/UFRGS)¹;

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

¹ O autor agradece às Unidades citadas pela gentil disponibilização dos equipamentos.

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

Metalizador Jeol Jee 4B, JVG-IN (CEM/UFRGS)¹;

Microscópio eletrônico de varredura Jeol – JSM 6060 (CEM/UFRGS)¹;

Microscópio óptico Jena;

Picnômetro de hélio Quanta Chrome modelo MVP1 (LACER/UFRGS)¹;;

Potenciômetro Digimed DM-20

Pré-coluna cromatográfica Phenomenex (EUA) Gemini C18, 4 x 3 mm d.i.;

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

Software estatístico Minitab[®] versão 14;

Software Microsoft Office Excel[®] 2003;

Software para modelos matemáticos CurveExpert versão 1.37;

Volúmetro de compactação J. Engelsmann (EUROPEAN, 1997).

2.4.3 Métodos

2.4.3.1 Determinação da perda por dessecação

O teor de umidade foi determinado por método gravimétrico, em balança com sistema de secagem por infravermelho. Cerca 1,10 g de produto seco, exatamente pesados, foram depositados em recipiente de alumínio, previamente tarado, e dessecados nas seguintes condições de secagem: *autodry* (0,30 %) e temperatura de 105 °C. Este ensaio foi realizado em triplicata com pré-aquecimento na primeira análise.

2.4.3.2 Determinação titulométrica de água (FARMACOPÉIA, 1988)

A determinação de água pelo método volumétrico está baseada na reação quantitativa entre a água e solução anidra de iodo dissolvida em metanol e 2-metóxi-etanol (reagente de Karl Fischer). Utilizou-se o equipamento de Karl Fischer com titulometria automática e detecção coulométrica do ponto final. Cerca de 30,0 mg

foram exatamente pesados. As análises foram realizadas em triplicata com branco para descontar a umidade do ambiente.

2.4.3.3 Determinação do pH (SOARES, 1997)

Cerca de 500,0 mg de PSA foram pesados e dispersos em 15 ml de água destilada. O pH foi medido a 25 °C, com potenciômetro calibrado com soluções tampão de pH 6,86 e 4,01. O resultado representa a média de três determinações.

2.4.3.4 Análise granulométrica

a) Determinação da granulometria por microscopia óptica (LANTZ, 1989)

A análise granulométrica foi realizada em microscópio óptico, considerando a medida do diâmetro de Ferret por meio da contagem de 1953 e 1279 partículas, respectivamente, de PSA80 e PSA40. A leitura foi realizada com ocular provida de nônio com 10 vezes de aumento e objetiva de aumento de 40 vezes (1 unidade do nônio da ocular corresponde a 3,5 µm). O pó foi depositado e disperso sobre a lâmina.

A análise dos resultados foi realizada utilizando o aplicativo computacional CurveExpert versão 1.37 para obter o modelo que melhor descrevesse os dados experimentais. O modelo de Morgan-Mercer-Flodin (MMF) escolhido foi empregado na obtenção da mediana da distribuição e na obtenção dos percentis 84 % e 16 % para adquirir o desvio padrão da distribuição (WELLS, 1988). A equação 2.1 do modelo MMF está descrita abaixo:

$$Y = \frac{\beta + \alpha \cdot X^\delta}{\gamma + X^\delta} \text{ (eq. 2.1)}$$

onde, Y é a variável dependente que representa a frequência relativa acumulada, X é a variável independente que representa o diâmetro médio particular, o parâmetro α é o valor máximo esperado para a resposta (assíntota), o parâmetro β está relacionado com o intercepto, o parâmetro γ está relacionado com a taxa média de crescimento da curva e o parâmetro δ responsável por aumentar a flexibilidade do modelo (REGAZZI, 2003).

A seguir empregou-se a equação 2.2 que possibilita a linearização do modelo de MMF. Tal equação foi elaborada pelo Prof. Dr. George González Ortega, deste Programa de Pós-graduação, e permite comparar estatisticamente os parâmetros δ e $\ln\gamma$, respectivamente, inclinação e intercepto por meio da comparação estatística das retas (CHARNET e col., 1999).

$$\ln\left(\beta - \frac{Y}{Y - \alpha}\right) = \delta \cdot \ln X - \ln \gamma \text{ (eq. 2.2.)}$$

Método matemático também foi empregado. Neste, a média aritmética foi obtida pela soma total dos diâmetros das partículas dividida pelo número de partículas contadas. O desvio padrão foi obtido pela raiz da soma do quadrado dos desvios pelos graus de liberdade. A assimetria foi avaliada pela função distorção no Excel que permite a utilização de todos os dados experimentais. A curtose (κ) foi calculada a partir da média aritmética (X), número de amostragem (n) e valores amostrais (x) (STANIFORTH, 2005a):

$$\kappa = \frac{n \cdot \sum (x - X)^4}{\left[\sum (x - X)^2\right]^2} - 3 \text{ (eq. 2.3)}$$

b) Determinação da granulometria por difração a laser

Realizou-se a determinação granulométrica se empregando analisador com sistema de avaliação de tamanho de partícula por meio da difração de luz laser. O solvente utilizado para a dispersão dos pós foi o óleo de silicone e utilizou-se de sonicação para evitar a presença de aglomerados de produto seco.

A análise permite a obtenção do diâmetro médio de Fraunhofer, mediana e percentís 10 % e 90 % por meio da curva sigmoideal traçada com o percentual cumulativo dos tamanhos de partícula, bem como, o gráfico de distribuição de freqüências relativas e cumulativas. O experimento foi realizado em triplicata e os resultados foram obtidos diretamente do programa computacional.

2.4.3.5 Análise em microscopia eletrônica de varredura

Efetuiu-se a avaliação por microscopia eletrônica de varredura após prévia metalização da amostra com filme de ouro em suporte de metal. A morfologia e a superfície das partículas foram observadas.

2.4.3.6 Determinação das densidades bruta e compactada (GUYOT e col., 1995, modificado)

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

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

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

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

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

2.4.3.8 Densidade real

As amostras de PSA40 e PSA80 tiveram sua densidade real determinada em picnômetro de comparação com gás (He), após secagem em estufa sob temperatura

inferior a 100 °C, condições nas quais o método foi realizado com três repetições em triplicata.

2.4.3.9 Determinação da área superficial específica (B.E.T.)

As amostras foram submetidas à secagem em estufa à temperatura de 100 °C durante 12 horas. As amostras secas tiveram sua área superficial específica determinada por adsorção de nitrogênio, utilizando a técnica desenvolvida por Brunauer, Emmett e Teller (B.E.T.). Utilizou-se a análise volumétrica por *multipoint* e *single point*. A área superficial do método *multipoint* foi calculada das seis pressões relativas (P/Po) de 0,05; 0,10; 0,15; 0,25 e 0,30. A informação do *single point* foi calculada da pressão relativa de 0,30. A regressão para o *multipoint* possuiu coeficiente de correlação de 0,9973 e 0,9998, respectivamente, para o PSA80 e PSA40.

2.4.3.10 Determinação do ângulo de repouso

Realizou-se o método empregando o aparelho segundo Parthirana e Gupta (1976), modificado por Guterres (1990). O aparelho consiste de um cilindro móvel, ajustado a uma base fixa, acoplado a um motor que, quando acionado, realiza um movimento ascendente que eleva o cilindro e permite a formação do montículo de pó na base. As sombras são obtidas por meio de uma fonte luminosa com distância padronizada que são projetadas e registradas numa planilha plana e disposta verticalmente. O ângulo de repouso foi obtido pelo cálculo de sua tangente, conforme as equações 2.4 e 2.5. Os resultados expressam a média de três determinações se empregando 30 ml de amostra.

$$tg\alpha = \frac{h}{r} \text{ (eq. 2.4);}$$

$$\alpha = \text{arc } tg\alpha \text{ (eq. 2.5);}$$

Onde, $tg\alpha$ = quociente entre os catetos oposto (h) e adjacente (r); α = ângulo de repouso (°) e $\text{arc } tg\alpha$ = função inversa da tangente.

2.4.3.11 Avaliação do teor de quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina e desenvolvimento de método para preparo de amostra para CLAE

Para o doseamento dos flavonóides majoritários no extrato seco foi utilizada metodologia de cromatografia líquida de alta eficiência desenvolvida e validada por Bica e col. (2009)¹. Após estudos preliminares, soluções hidroalcoólicas a 60 % e a 85 % (v/v) foram escolhidas para dispersar os flavonóides marcadores, respectivamente, do PSA40 e do PSA80 com auxílio de sonicação. Curva analítica foi realizada para estabelecer a faixa de concentração onde não ocorre saturação. As concentrações foram de 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 7,5; 10,0; 15,0; e 20,0 mg/ml de PSA para solução hidroalcoólica. Para cada concentração se realizaram três determinações para garantir a repetibilidade da extração. Para análise cromatográfica esta solução foi diluída com metanol:ácido fosfórico a 0,1 % (1:1, v/v), perfazendo concentrações finais entre 0,3 e 0,5 mg/ml de PSA.

A quantificação do PSA foi realizada com 50 mg de PSA40 e PSA80 em balão de 50 ml com a respectiva solução hidroalcoólica. Para análise cromatográfica, 6,0 ml dessa solução foram diluídos a 20,0 ml com a mistura diluente para CLAE e filtradas em membrana de 0,45 µm de HVHP. Os resultados foram expressos por meio de três determinações. As injeções de 20 µl da amostras foram feitas em triplicata.

Com o objetivo de comparar os modos de preparo, empregou-se o modo desenvolvido por Teixeira (1996). A amostra de cerca de 500 mg de PSA40 e PSA80, exatamente anotadas, foram colocadas em erlenmeyer com tampa esmerilhada e extraída com 50 ml de acetato de etila durante 2 horas, sob agitação magnética. As soluções foram filtradas para o balão volumétrico de 50 ml, completando-se o volume com o mesmo solvente. Aliquota de 25,0 ml desta solução foi levada a resíduo em evaporador rotatório, retomada em metanol e transferida para balão volumétrico de 25 ml completando-se o volume com o mesmo. Para a análise cromatográfica, 1,0 ml da solução foi diluído a 20,0 ml com a mistura metanol: ácido fosfórico a 0,1 % (1:1,

¹ BICA, V.C.; PIRAN, S.M.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. manuscrito a ser submetido para publicação, contido ao final do capítulo 8 (item 9.8)

v/v). A seguir a solução foi filtrada com membrana de 0,45 µm HVHP. Os resultados foram expressos por meio de três determinações. As injeções de 20 µl das amostras foram feitas em triplicata.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de umidade residual em produtos sólidos pode acarretar alterações microbiológicas, físicas e químicas, bem como modificações da estabilidade de empacotamento e propriedade reológica do material pulveroso. Além disso, extratos secos vegetais provenientes de torre de secagem por aspersão são comumente amorfos, porosos e higroscópicos possuindo elevada área superficial e, por conseguinte, alta sensibilidade à umidade circundante. Sendo assim, o controle da umidade se faz essencial.

Utilizou-se de balança termogravimétrica para obtenção da perda por dessecação dos produtos secos. A balança por radiação infravermelha, embora apresente rapidez nas determinações, possui baixo nível de penetração das radiações o que poderia ocasionar em camadas superficiais mais secas, do que as camadas mais inferiores (AULTON, 2005). Contudo, por ter sido realizado com montante pulveroso bem espalhado e de pequena altura constituído de partículas de diâmetro reduzido, esféricas e ocas, este problema foi desprezado.

Devido à baixa quantidade de óleos voláteis no PSA decorrente do reduzido percentual destes compostos na planta (LABUCKAS e col., 1999), ao modo de extração e ao processo de secagem, bem como à ausência de água de hidratação, pode-se inferir que o percentual de perda por dessecação seja igual à quantia de água presente nos mesmos. Apesar dessas suposições, realizou-se o método titulométrico por Karl Fischer para determinação da água.

Os resultados apresentados pelos métodos (tabela 2.5.1) embora sejam estatisticamente semelhantes, apresentam maior média para a perda por dessecação. A pequena diferença entre ambos poderia residir na presença de óleos voláteis nos PSA, no entanto, o baixo percentual destes compostos, anteriormente referido, torna menos

provável essa hipótese. A maior sensibilidade e reprodutibilidade da determinação da água por Karl Fischer, atestados pelo menor desvio padrão relativo, pode melhor explicar a diferença entre os métodos.

Tabela 2.5.1. Teor de umidade dos PSA40 e PSA80.

Produto Seco	PSA40	PSA80
Método	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)
Perda por dessecação (%)	6,01 ^a ± 0,36 (6,00)	3,59 ^b ± 0,43 (11,89)
Karl Fischer (%)	5,15 ^a ± 0,15 (2,97)	2,84 ^b ± 0,09 (3,21)

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$)

Os PSA apresentam diferença significativa na perda por dessecação, entretanto, ambos tiveram umidade residual abaixo de 6 - 7 %, limite para extratos que não são hermeticamente selados (LIST e SCHMIDT, 1989). Provavelmente o PSA40 demonstrou maior higroscopicidade tendo em vista que o extrato de origem possui uma maior polaridade quando comparado ao PSA80. A maior umidade residual pode ter íntima relação com a maior concentração de estruturas multi-hidroxiladas e com outros grupamentos polares, que podem estabelecer ligações de hidrogênio.

O PSA40 logo após a sua produção apresentou umidade residual de 5,27 % (PETROVICK, 2006) sendo diferente da perda por dessecação apresentada neste trabalho, mas bem próximo do valor apresentado pelo método de Karl Fischer. Essa diferença reside no método utilizado (estufa e balança termogravimétrica), bem como devido ao tempo de armazenamento. Convém notar que, após o recebimento dos PSA, estes foram armazenados ao abrigo da luz e com temperatura e umidade controladas em dessecador de gel de sílica.

A determinação do pH serve para acompanhamento da estabilidade do pó, visto que alterações nesta, muitas vezes, apontam para contaminação ou perda da estabilidade dos componentes do produto.

Tabela 2.5.2. Determinação do pH do PSA40 e PSA80.

Análise	PSA40	PSA80
pH [média ± s (dpr %)]	4,79 ± 0,08 (1,74)	5,38 ± 0,08 (1,45)

A diferença entre os PSA (tabela 2.5.2) não causa estranheza, pois possuem composições distintas. O caráter levemente ácido é característico dos extratos líquidos de *A. saturoioides*, sendo adequado para a estabilidade dos mesmos, embora se meça nessas situações o pH aparente (soluções hidroalcoólica). Esta determinação serve como uma ferramenta auxiliar para verificar ao longo do tempo de armazenamento possíveis alterações no produto.

Com relação à análise granulométrica, utilizou-se de duas avaliações para os dados provenientes do diâmetro de Ferret, o método matemático (média aritmética) e o ajuste do melhor modelo para obtenção da mediana e do desvio da distribuição granulométrica. O modelo Morgan-Mercer-Flodin (MMF) (equação 2.1), por contemplar os critérios de coeficiente de determinação superior a 0,99 e baixo erro padrão, foi escolhido. Estas são funções de crescimento, sendo aplicadas a uma ampla gama de fenômenos biológicos e químicos, desde descrição do efeito nutricional em organismos superiores até a cinética de transformação de fase no estado sólido (MORGAN e col., 1975; CAPELA e col., 2001). Esse modelo oriundo da equação de Hill (triparamétrica) possui quatro parâmetros que podem informar sobre algumas propriedades da distribuição granulométrica (tabela 2.5.3).

Tabela 2.5.3. Parâmetros do modelo de Morgan-Mercer-Flodin (MMF)

Parâmetro	PSA40	PSA40*	PSA80
r^2	0,9996	0,9988	0,9997
Erro padrão	0,66	1,44	0,65
Parâmetro α	101,55	101,17	100,67
Parâmetro β	1,5167	3,1725	0,6718
Parâmetro γ	8001,79	8334,96	2530,80
Parâmetro δ	3,4023	3,6579	3,1766

* Obtido a partir de dados da dissertação de Petrovick (2006). r^2 = coeficiente de determinação.

O valor do parâmetro α nos modelos garante adequabilidade da descrição da assíntota visto que está próximo de 100 %. Igualmente, o parâmetro β mostra valores baixos uma vez que este descreve o intercepto. A diferença destes valores para a nulidade provém do erro inerente do modelo. Os parâmetros γ e δ foram avaliados pela

linearização e comparação de retas, principalmente, devido ao primeiro que informa sobre a taxa média de crescimento da curva e pode ser importante na avaliação da dispersão granulométrica (REGAZZI, 2003).

O modelo MMF foi linearizado de modo que englobasse a maior parte da faixa de trabalho. A regressão linear foi avaliada quanto a sua adequação pela ANOVA, coeficiente de determinação, erro padrão, intervalos de confiança do intercepto e da inclinação, distribuição dos resíduos e presença de *outlier*. As equações lineares do PSA40 e PSA80 apresentaram homocedasticidade, ausência de *outlier* e de erro sistemático, bem como ANOVA significativa e adequado coeficiente de determinação. A inclusão no intervalo de confiança, obtido do intercepto e inclinação, dos parâmetros $\ln\gamma$ e δ , adquiridos diretamente do modelo original (equação 2.3), corrobora com adequação da linearização já que esses parâmetros não foram alterados. Da mesma forma, para comparar com a granulometria realizada por Petrovick (2006), esta teve boa aderência ao modelo MMF e foi linearizada apresentando a mesma adequação das anteriores. Os resultados estão sumarizados na tabela 2.5.4.

Empregou-se na comparação de reta o teste de paralelismo (inclinação) e de intercepto. Como estes não são independentes, o nível de significância α ficaria inflacionado se os testes individuais fossem neste nível, sendo então recomendada a utilização de $\alpha/2$ (CHARNET e col., 1999).

Tabela 2.5.4. Equações da reta obtida dos dados transformados da microscopia óptica pelo modelo de Morgan-Mercer-Flodin (MMF).

Material	Equação da reta $F(Y) = - \ln\gamma + \delta(\ln X)$	r^2	Erro Padrão
PSA40	$-9,1429^a + 3,4609^a X$	0,9989	0,0735
PSA40 (PETROVICK, 2006)	$-8,5395^b + 3,5093^a X$	0,9947	0,1674
PSA80	$-7,3987^c + 3,2019^c X$	0,9989	0,0710

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem pelo teste *t de Student* ($\alpha/2 = 0,05$) presumindo variâncias diferentes (CHARNET e col., 1999). r^2 = coeficiente de determinação.

As retas provenientes da análise do PSA40 realizada neste trabalho e no de Petrovick (2006) apresentam paralelismo o que permite inferir que o parâmetro δ é igual entre as análises. Este parâmetro aumenta a flexibilidade do modelo e quanto mais próximo o seu valor da unidade melhor é a descrição do modelo por curvas

hiperbólicas (MERCER e col., 1978). Dado que o gráfico de frequências acumuladas em função do diâmetro particular apresenta formato sigmoidal, se explica o distanciamento do valor unitário mostrado no intervalo de confiança do δ (3,11-3,78). Nesse teste o PSA80 apresentou diferenças estatísticas das outras retas, muito embora, visualmente não se possa verificar diferença gráfica quanto ao formato.

O parâmetro γ pode ser avaliado por meio do teste do intercepto e permitiu constatar a diferença entre os materiais pulverosos, especialmente, o PSA40 e o PSA80 cuja diferença foi digna de nota. Logo nenhuma das retas se apresentou coincidente. O primeiro objetivo da linearização foi tornar o modelo tetraparamétrico em um modelo com apenas dois parâmetros isolados, sendo um deles o γ , permitindo a discriminação estatística entre os parâmetros dos PSA por meio da comparação de retas. Tal objetivo pode ser realizado e permitiu sua aplicação para posteriores análises. A divergência entre os PSA demonstra que o PSA40, com maior valor de γ , apresenta menor dispersão granulométrica.

A interdependência dos testes faz com que a hipótese de reta única seja rejeitada quando um dos resultados apresente rejeição de H_0 . Esses dados demonstram que a microscopia óptica pelo método de Ferret apresenta limitações, uma vez que amostragens diferentes de mesma população, analisadas por pessoas diferentes, com número de contagens distintas não se apresentaram reprodutíveis quando analisadas no conjunto dos dados pela equação da reta. Tal fato reafirma a variabilidade atribuída ao microscopista.

Observa-se pelo histograma de distribuição granulométrica (figura 2.5.1) a semelhança entre ambos os produtos secos que se atribui à similaridade entre o processo de concentração, processo de secagem e ao acréscimo dos mesmos adjuvantes de secagem (semelhança qualitativa).

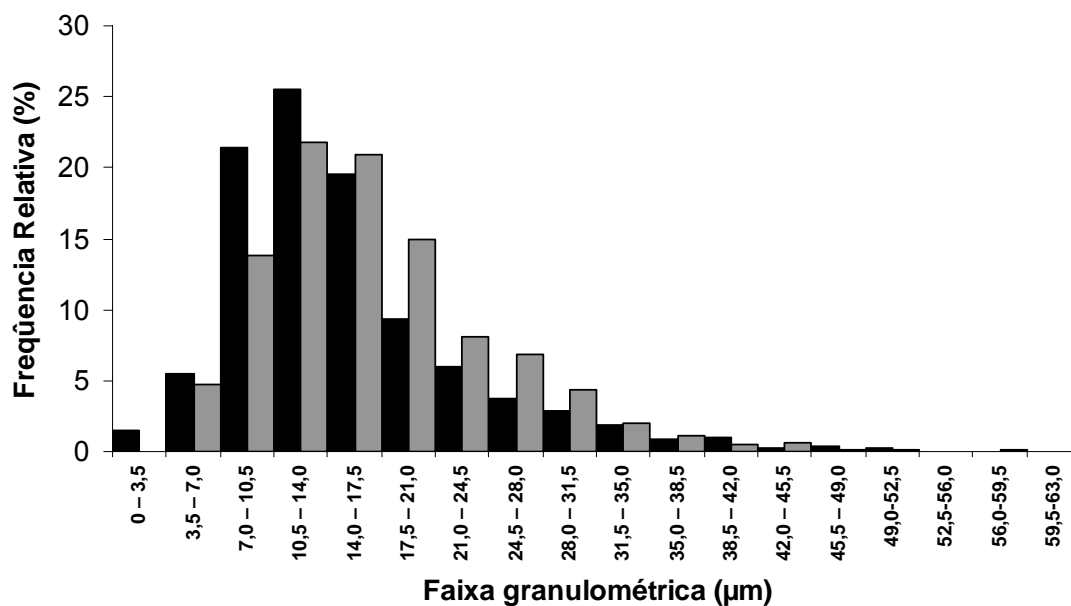


Figura 2.5.1. Histograma de distribuição granulométrica dos produtos secos analisados (■ = PSA40; ■ = PSA80)

O gráfico de distribuição granulométrica denota claramente a normalidade aproximada das distribuições. A moda das duas distribuições está na faixa de 10,5 – 14,0 (µm). A faixa da moda compreende a mediana obtida pelo modelo MMF linearizado dos dois produtos secos e fica próxima da média aritmética de ambos (tabela 2.5.5). Desta forma, as medidas de tendência central estão aproximadas o que evidencia certa normalidade da distribuição.

Independente da técnica usada e do método de análise dos resultados, os dados da tabela apontam para partículas de pequenas dimensões, características de materiais que proporcionam propriedades reológicas inadequadas. Os PSA40 e PSA80 são classificados pela farmacopéia de pós finíssimos usando os resultados da microscopia óptica (FARMACOPÉIA, 1988). Os resultados são similares aos apresentados para outros produtos secos por aspersão (DA SILVA, 2003).

O desvio padrão da distribuição superior a 1,5 e inferior a 2,0 representa uma distribuição intermediária entre leptocúrtica e mesocúrtica (WELLS, 1988). O maior valor foi apresentado pelo PSA80 reafirmando a análise do parâmetro γ . O cálculo da curtose a partir da média aritmética, no entanto, não deixa dúvidas sobre a distribuição

leptocúrtica dos produtos secos, principalmente do PSA80. Essa paradoxal diferença entre diferentes avaliações da mesma análise microscópica pode ser delegada à forma de cálculo empregada. Os percentis e a mediana são usados no modelo MMF enquanto no método matemático se emprega a média aritmética e o desvio padrão de todos os dados experimentais. As distribuições embora, aproximadamente, gaussianas apresentam um leve desvio para esquerda.

Tabela 2.5.5. Resultados da análise granulométrica

Método e parâmetros \ Amostra	PSA40*	PSA40**	PSA80
	Média ± s	Média ± s	Média ± s
MMF linear			
mediana ± desvio da distribuição	13,78 ± 1,60	11,51 ± 1,56	11,68 ± 1,67
Matemático			
média ± s	16,95 ± 7,62	14,22 ± 6,43	15,14 ± 7,79
Curtose	1,66	1,79	2,82
assimetria	1,07	1,01	1,44
Dispersão de luz laser			
média	20,76		20,58
mediana	22,37		23,29
percentil 10 e 90	2,67 e 35,58		2,57 e 33,05

* = a partir dos dados obtidos neste trabalho; ** = a partir dos dados obtidos por Petrovick (2006).

A fim de comparar a morosa técnica de microscopia óptica com outra técnica moderna e de avaliar o grau de similaridade entre os resultados se incluiu a análise de tamanho de partícula por difração a laser. Essa técnica é muito utilizada em diversos ramos industriais devido à sua facilidade operacional, rapidez e amplitude de leitura.

Basicamente, a técnica consiste na dispersão da amostra em meio líquido ou gasoso. A emissão de luz por um laser a hélio-néon na amostra provoca sua difração. Devido à grande diferença de dimensões entre a partícula e o comprimento de onda, a luz é dispersa plana com apenas uma pequena alteração de ângulo. Esse ângulo se altera conforme o diâmetro da partícula e este desvio angular é captado em fotodetectores e a seguir apropriados em um microprocessador (STANIFORTH, 2005a).

Devido à natureza da solução extrativa originária e à presença de polissorbato, solventes lipofílicos e hidrofílicos dissolvem parcialmente o produto seco. Sendo assim empregou-se o silicone líquido com agente dispersante, que já havia apresentado bons resultados para produtos secos por aspersão de outros trabalhos (PAVEI, 2009)¹.

A difração a laser possibilitou a observação de uma distribuição bimodal que não havia sido observada na análise por microscopia óptica (figuras 2.5.2 e 2.5.3). Isso se deve a maior sensibilidade desta técnica para partículas de menor dimensão. Tal fato resulta numa distribuição granulométrica mais larga do que a observada na microscopia. A análise, tanto da média quanto da mediana, dadas pelo *software* do equipamento, denota novamente proximidade dos valores de medida de tendência central, o que já havia sido observado na microscopia óptica. Apesar da sensível diferença entre os resultados obtidos por esta técnica e a anterior, os valores estão na mesma escala e não há grande discrepância.

Independente da técnica de eleição observa-se que ambas possuem problemas em comum. A amostragem de ambas é pequena, o que pode resultar em não representatividade da população, bem como subestimem os valores de diâmetro médio devido à utilização de contagem numérica ou sinais captados e não gravimetricamente como outras técnicas (ex. tamisação). Este último aspecto pode considerar que 90 % das partículas tenham o mesmo peso que as outras 10 %, visto que partículas menores possuem maior valoração na contagem, embora representem pouco ponderalmente (PARROT, 1970).

As técnicas mais utilizadas para avaliar formato, superfície e estrutura são a microscopia óptica e a eletrônica. Na microscopia óptica, a diferença de reflectividade da luz nas regiões da partícula proporciona o contraste da imagem sendo o sistema constituído basicamente pela fonte iluminadora e o sistema de lentes. Deste modo, esta técnica possibilita apenas uma visualização bidimensional da partícula e, além disso, por possuir limitações quanto ao aumento máximo atingido, existe perda de pequenos detalhes estruturais. Conseqüentemente, esta técnica é preterida quando se possui a

¹ PAVEI, C. Comunicação pessoal sobre a sua tese de doutorado, PPGCF/FACFAR/UFRGS, 2009

microscopia eletrônica (MEV), a qual devido à formação da imagem por elétrons secundários e retroespalhamento permite a visualização espacial e alto poder de resolução (MALISKA, 2004).

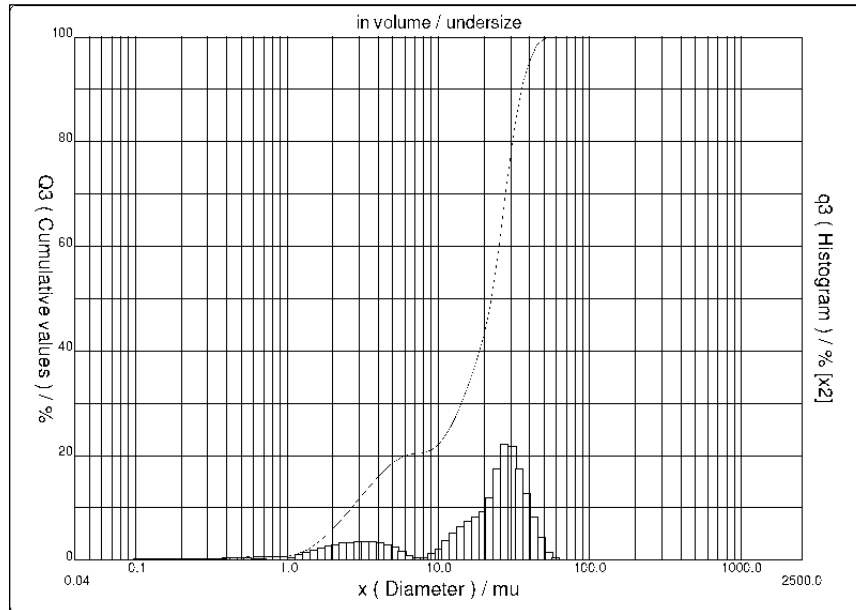


Figura 2.5.2. Histograma de distribuição granulométrica de frequências relativas do PSA40 obtido por difratometria a laser

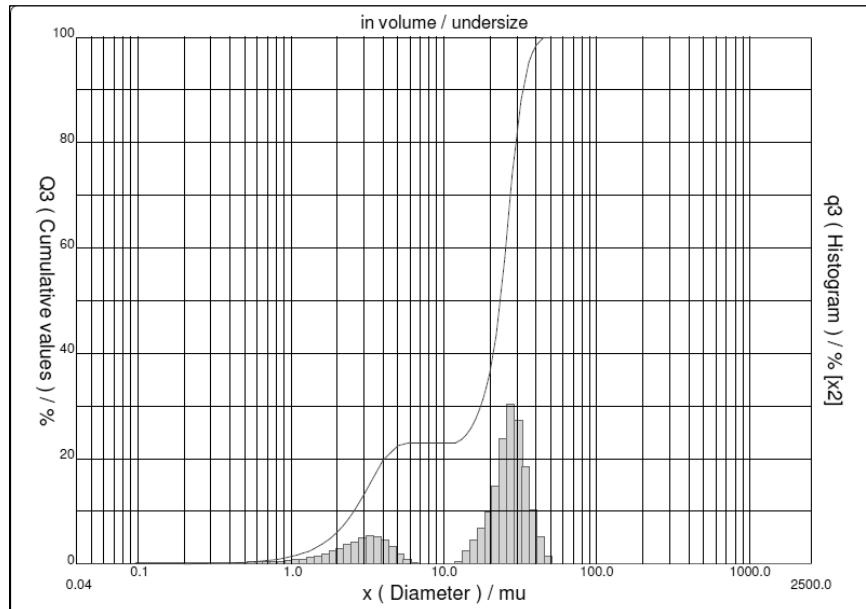


Figura 2.5.3. Histograma de distribuição granulométrica de frequências relativas do PSA80 obtido por difratometria a laser

A microscopia eletrônica de varredura (figuras 2.5.4 e 2.5.5) corroborou com os dados obtidos pela difração a laser que evidencia a presença de duas populações com tamanhos particulares distintos. Os dois extratos secos apresentaram as características

típicas dos produtos provenientes da torre de secagem por aspersão com partículas esféricas, ocas e com superfície porosa, típica estrutura amorfa (TEIXEIRA, 1996; DA SILVA, 2003; DE SOUZA, 2004; SPANIOL, 2007). A morfologia dos PSA torna mais apropriada a utilização do diâmetro de Ferret que presume esfericidade.

A área superficial é um dos parâmetros mais importantes na caracterização de sólidos, pois é parte integrante nos processos de dissolução, sorção e desorção de gases e vapor, assim como se relaciona com a exposição às condições externa (ex. raios UV), propriedades reológicas e coesibilidade.

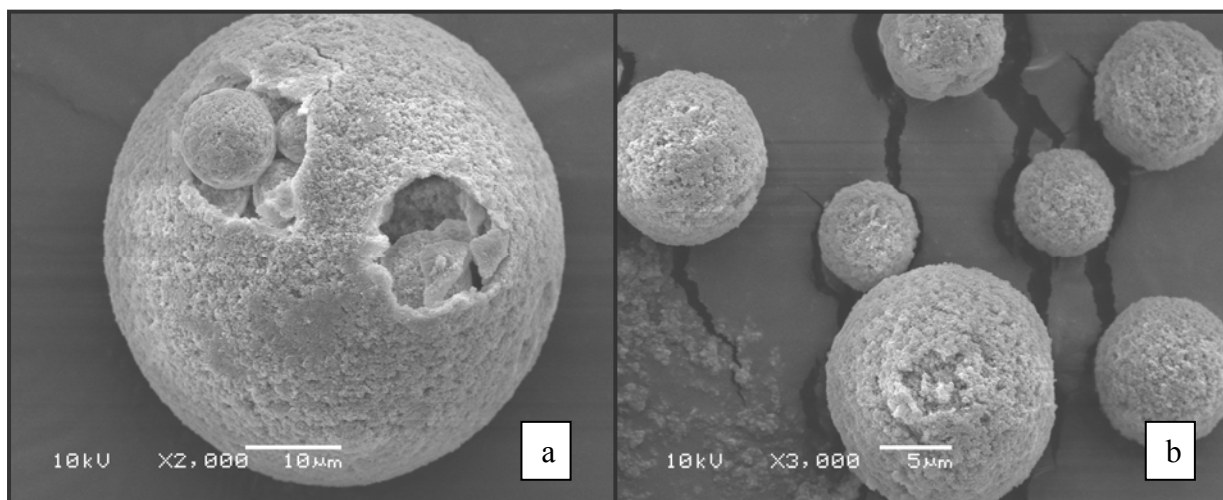


Figura 2.5.4. Fotomicrografias do PSA40 com aumentos de 2000X (a) e 3000X (b)

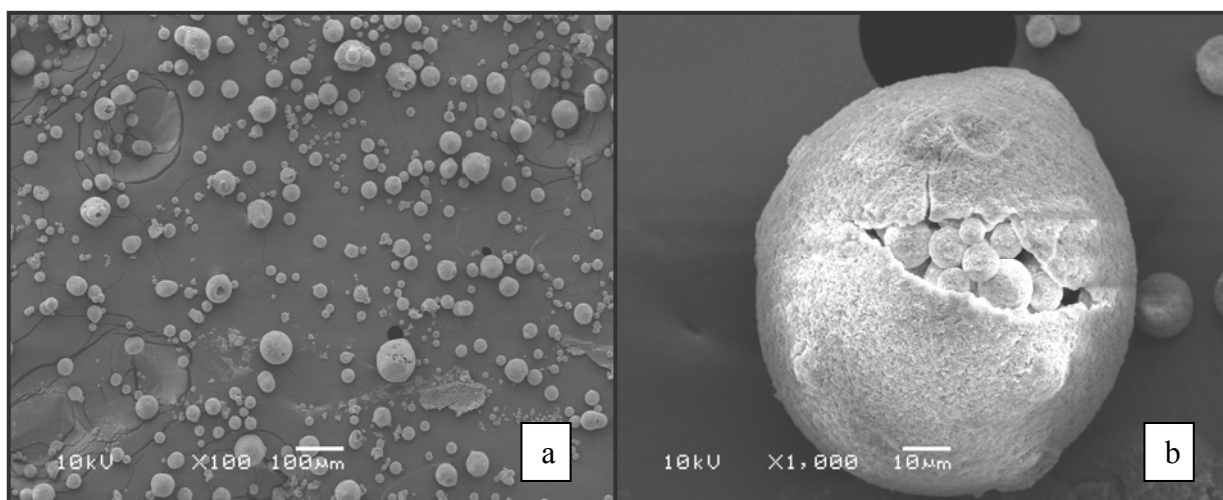


Figura 2.5.5. Fotomicrografias do PSA80 com aumentos de 100X (a) e 1000X (b).

Em tecnologia de pós há numerosos casos em que as propriedades do sistema pulveréneo são mais bem descritas pela área superficial das partículas do que pela distribuição granulométrica. A presença de superfície rugosa, poros e interior oco

observado na MEV pode resultar em grande diferença entre a área superficial real e a calculada a partir dos dados granulométricos (SCHOOF, 1997).

As técnicas empregadas para determinação da área superficial são relativamente simples e convenientes para uso, sua informação pode refletir o tamanho das partículas (o inverso ao quadrado do diâmetro particular). A aproximação mais comum para determinação da área superficial é baseada na teoria da adsorção de Brunauer, Emmett, Teller (B.E.T.). Embora elaborada há mais de 50 anos, a teoria continua sendo universalmente usada devido a sua simplicidade e, principalmente, sua capacidade de acomodar cinco tipos de isothermas (LOWELL e SHIELDS, 1991).

Resumidamente, a teoria estabelece que a maioria das substâncias adsorve uma monocamada de gás sobre certas condições de pressão parcial e temperatura. Conhecendo a quantidade de adsorbato (gás) necessária para formar uma monocamada no adsorvente (V_m) e área da molécula do adsorbato, a área superficial do sólido, em princípio, pode ser determinada (LIEBERMAN e LACHMAN, 1980).

O nitrogênio (N_2) é o adsorbato mais freqüentemente empregado em pressões parciais estabelecidas por misturas com um gás inerte, normalmente hélio. Tem sido demonstrado que, em pressões parciais de nitrogênio, quando esse atinge 30 % da mistura com o gás inerte à temperatura de 77 K, uma monocamada é formada. Acredita-se que nessas condições a polaridade do nitrogênio é suficiente para formar forças de atração de *van der Waals* entre os adsorbatos e os adsorventes, sobrepujando a força intermolecular de atração entre as moléculas de nitrogênio. O nitrogênio não ocasiona reações químicas e sua ligação é de natureza inespecífica, conseqüentemente, é uma molécula ideal para este papel (LIEBERMAN e LACHMAN, 1980).

A área superficial foi determinada por meio da técnica de B.E.T. empregando o método *single point* e *multipoint*. A área superficial, quando dividida pela massa da massa do adsorvente (PSA), possibilita a obtenção da área superficial específica que independe da massa utilizada e permite a comparação entre os pós. Embora o método *single point* seja mais prático, necessitando apenas a aplicação da pressão relativa no ponto onde teoricamente ocorre a formação da monocamada, o método *multipoint* é

mais robusto por empregar seis pontos na obtenção do V_m a partir da regressão dos mesmos (VILA JATO, 2001; SCHOOFS, 1997).

Observa-se proximidade entre os valores obtidos para os dois produtos secos, principalmente, no que tange ao método *multipoint* (tabela 2.5.6). A diferença mais expressiva foi, entre os dois métodos, para o PSA40, que pode ser atribuída ao baixo valor do fator C. A simplificação da equação de B.E.T. por meio do *single point* só é permitida quando o C for suficientemente alto, superior a 100 (SCHOOFS, 1997).

Tabela 2.5.6. Área superficial específica dos produtos secos.

Parâmetros \ Amostra	PSA40 Média	PSA80 Média
<i>Single Point</i> (m ² /g)	8,40	7,85
<i>Multipoint</i> (m ² /g)	9,49	8,12
Diferença relativa (%)	11,51	3,31
Valor do fator C	17,81	476,56

O fator C, apresentado na tabela 2.5.6, é uma constante da equação B.E.T. que está relacionada com a entalpia da adsorção da primeira camada. Tal descreve a intensidade da atração entre as moléculas do adsorbato e a superfície do adsorvente. Um baixo valor, como é o caso do PSA40, aponta para forte interação entre adsorbato-adsorbato (inferior a 20). O PSA80, no entanto, apresenta um alto valor (superior a 200) indicando uma intensiva interação entre adsorbato e adsorvente (SCHOOFS, 1997).

O baixo valor apresentado pelo PSA40 indica as isotermas dos tipos III e V, sendo que os valores de C, geralmente, estão entre 5 e 20 para materiais orgânicos (METZ, 1997). Para o PSA80 o valor elevado de C, típico da isoterma I, se deve ao possível preenchimento de microporos, que são poros inferiores a 2 nm (SCHOOFS, 1997). Apesar dessas características divergentes entre os PSA, ocorreu, como já mencionado, uma grande semelhança entre as áreas superficiais específicas.

O PSA40, que apresentou maiores densidades bruta e compactada, mas, quanto à estabilidade de empacotamento, evidenciada pelos FH, IC e ID, não difere do PSA80. A análise estatística demonstra que os produtos secos só foram diferentes em

parâmetros relacionados intrinsecamente à composição dos mesmos, tal como a densidade bruta, densidade compactada e densidade real (tabela 2.5.7).

O empacotamento das partículas é dependente do tamanho, formato e densidade real das mesmas. Embora a densidade real dos PSA tenha sido estatisticamente diferente, a distribuição granulométrica e o formato das partículas foram avaliados e demonstraram similaridade nos resultados. Tal fato explica o empacotamento estatisticamente igual entre os PSA.

Os valores das densidades bruta e compactada e, principalmente, dos índices e fator advindos destes, são bons indicadores para avaliação de propriedades de empacotamento, entretanto, não possuem grande poder preditivo quanto às propriedades reológicas. Apesar disso, a literatura comumente apresenta uma relação entre estes aspectos (WELLS, 2005; VILA JATO, 2001), no entanto, se deve ter cautela para fazer essas inferências, pois há várias exceções para essa suposta regra.

Tabela 2.5.7. Análise comparativa da caracterização dos PSA40 e PSA80.

Amostra	PSA40	PSA80
Parâmetros	média ± s (dpr %)	média ± s (dpr %)
Densidade bruta (g/ml)	0,513 ^a ± 0,011 ^a (2,09)*	0,466 ^b ± 0,001 ^b (0,16)
Densidade comp. (g/ml)	0,633 ^a ± 0,003 ^a (0,52)*	0,562 ^b ± 0,004 ^a (0,75)
Fator de Hausner	1,234 ^a ± 0,036 ^a (2,94)*	1,205 ^a ± 0,008 ^b (0,68)
Índice de Carr (%)	18,93 ^a ± 2,36 ^a (12,49)*	17,02 ^a ± 0,561 ^a (3,29)
Índice de densificação (ml)	27,17 ^a ± 2,566 ^a (9,44)*	29,38 ^a ± 1,34 ^a (4,58)
Densidade real (g/cm ³)	1,613 ^a ± 0,016 ^a (0,99)	1,521 ^b ± 0,011 ^a (0,71)
Ângulo de repouso (°)	15,48 ± 4,98 (32,20)*	22,20 ± 2,85 (12,86)

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha=0,05$) com variâncias iguais ou diferentes dependendo do Teste F. Desvios padrão seguidos pela mesma letra, nas linhas, não possuem variâncias que diferem pelo teste F ($\alpha=0,05$). * Dados de Petrovick (2006). Densidade comp. = densidade de compactação.

O Fator de Hausner, no qual se utiliza a razão entre as densidades, relacionando o atrito entre as partículas, sugere que os pós possuem boa estabilidade de empacotamento visto que mostram valores inferiores a 1,25. O índice de compressibilidade preconizado por Carr reforça a avaliação do FH para os PSA (WELLS, 2005). Há que se ressaltar, no entanto, a proximidade com os valores limítrofes dados pela literatura para o PSA40.

O índice de densificação (ID) provê informações sobre o comportamento do pó quando submetido à movimentação e alguns autores acreditam que possa se inferir sobre o comportamento compressional do mesmo. Os valores apresentados, superiores a 20 ml, sugerem problemas durante a compressão ou enchimento de espaços, visto que vibrações, inerentes do processo, poderão alterar sensivelmente a densidade do pó e acarretar problemas de uniformidade de dose.

O ângulo de repouso é um método indireto que quantifica o fluxo do material particulado em função da sua relação com a coesão interparticular. Embora as diferentes variantes desta técnica possam conduzir a valores díspares para uma mesma amostra, possuem resultados coerentes. Ocorre, também, que uma mesma amostra pode apresentar resultados discordantes devido à forma como foi manuseada previamente (STANIFORTH, 2005b).

Os métodos diretos, como o fluxômetro, possibilitam determinar a velocidade de fluxo de massa, bem como proporcionam um meio de quantificar a uniformidade de fluxo, podendo estar interfaceado com um microcomputador (STANIFORTH, 2005b). Desta maneira, os dados obtidos são mais fidedignos que os métodos indiretos e permitem uma maior amplitude de conclusões. Apesar disso, possuem as mesmas limitações do ângulo de repouso para pós muito coesivos (VILA JATO, 2001).

O ângulo de repouso, conquanto seja limitado, possui melhor capacidade de mensurar o fluxo que os índices e fatores provenientes das densidades bruta e compactada. O ângulo de repouso foi preferido na avaliação reológica do produto seco ao fluxo direto devido às inerentes propriedades coesivas do pó que prejudicam muito a análise direta (COUTO, 2000). Utilizou-se o aparelho descrito por Parthirana e Gupta (1976), modificado por Guterres (1990).

De acordo com a literatura, ângulos de repouso inferiores a 30° sugerem boas propriedades fluxo (PRISTA, 2003; WELL, 2005). O ângulo de repouso obtido para os dois pós, como mostra a tabela 2.5.7, sugere boas propriedades reológicas. Apesar disso, observaram-se resultados anômalos. Os resultados experimentais mostram a

grande variabilidade, expressa pelo desvio padrão relativo, impossibilitando uma adequada avaliação estatística dos dados, assim como demonstra fluxo irregular.

No presente estudo, o PSA80 apresentou dois ângulos de repouso, característico de pós muito coesivos. A coesão interparticular provoca, inicialmente, a formação de um cone íngreme que com o acréscimo de pó entra em colapso de forma abrupta. Ocorre retenção de ar entre as partículas, o leito torna-se parcialmente fluido e com maior mobilidade (STANIFORTH, 2005b). Os dois ângulos de repouso formados comprometem os dados obtidos para o PSA80. Petrovick (2006) não relatou para o PSA40 a ocorrência deste fenômeno.

Embora os PSA possuam formato quase que perfeitamente esférico o que diminui a superfície de contato e deveria, com isto, melhorar o fluxo, suas pequenas dimensões e sua natureza amorfa e porosa proporcionam uma zona de contato elevada. Tal dado é corroborado pela análise da área superficial específica. Conseqüentemente, esses pós tendem a ser muito coesivos e os problemas de fluxo surgem com maior probabilidade. Assim como a inferência realizada com relação aos FH, IC e ID quanto ao fluxo, os resultados obtidos pelo ângulo de repouso devem ser avaliados com prudência, haja vista ser uma técnica indireta e, por vezes, pouco reprodutível.

Após as avaliações das características estruturais dos PSA, foi estudada a metodologia analítica, tendo em vista a ocorrência de fenômenos de escurecimento na fase exploratória de compressão. Durante os estudos da etiologia do escurecimento observado na coloração, ambos os PSA foram submetidos ao processo de extração de flavonóides com o método proposto por Teixeira (1996). Para garantir a extração total dos flavonóides se repetiu o processo com a mesma amostra. A análise por CLAE mostrou ainda a presença de alta concentração de flavonóides. Realizaram-se outras três extrações do resíduo, sendo que a última ainda apresentava concentrações detectáveis dos flavonóides, embora baixas.

Visando dissolver completamente os PSA40 e PSA80, foram testados os solventes: água, metanol, metanol a 50 %, éter etílico, etanol a 96 %, etanol 90 % e,

por fim, as misturas extrativas dos quais os mesmos são oriundos, solução hidroetanólica a 40 e a 80 % (v/v). As concentrações empregadas foram de 1 mg/ml até 10 mg/ml. A avaliação da efetividade da dissolução foi qualitativa por meio da observação visual de precipitados e sua coloração, realizada após centrifugação das soluções. Apenas as soluções hidroalcoólicas a 40, 80 e 90 % apresentaram resíduos sólidos bege-branco, devido provavelmente ao dióxido de silício coloidal, o emprego dos demais solventes resultou na presença de precipitados amarelos ou marrons, possíveis indicativos da presença de flavonóides.

Dada a boa dissolução nas soluções etanólicas a 80 e a 90 % do PSA80 e a melhor dispersão do PSA40 nas soluções etanólicas a 40 e a 80 %, embora ainda insatisfatória, testaram-se também soluções hidroetanólicas com concentrações intermediárias. As soluções etanólicas a 60 e a 85 % foram eleitas, respectivamente, para a dissolução do PSA40 e do PSA80. Após centrifugação, as mesmas apresentaram precipitado branco, provavelmente devido ao adjuvante de secagem, muito embora, a hipótese de presença de polissacarídeos não deva ser desprezada.

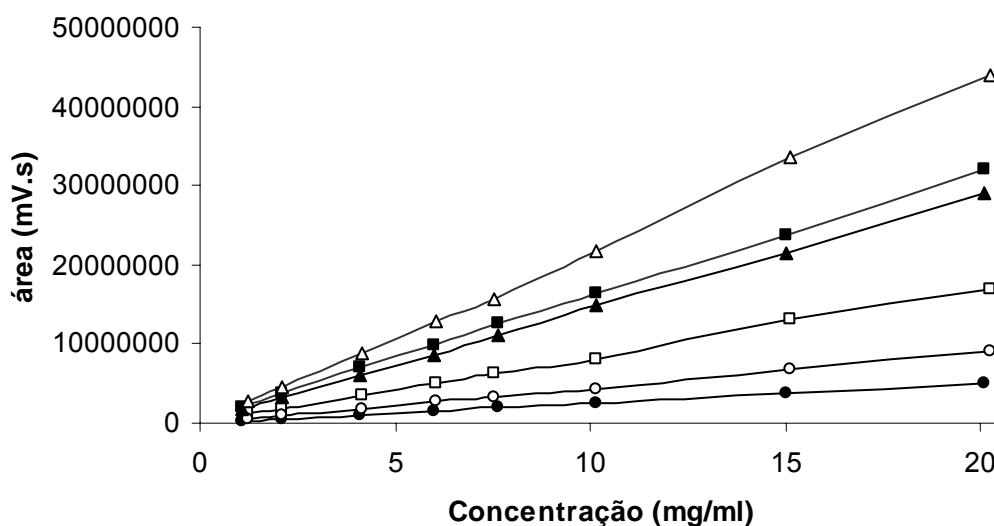


Figura 2.5.6. Relação entre concentrações dos PSA40 e PSA80 e as respostas do cromatógrafo a líquido de alta eficiência para os flavonóides marcadores.

■ = quercetina PSA80; □ = quercetina PSA40; ● = luteolina PSA80; ○ = luteolina PSA40; ▲ = 3-O-metilquercetina PSA80; △ = 3-O-metilquercetina PSA40.

Para garantir a total dissolução dos PSA e prever o ponto de saturação da solução hidroalcoólica se realizou uma curva com oito concentrações. Os resultados do

método analítico utilizado (CLAE) mostraram influencia das soluções dispersantes (etanol a 60 e a 80 %) sobre o tempo de retenção cromatográfico, sendo necessária, após a dissolução, a diluição com metanol:ácido fosfórico a 0,1 % (1:1, v/v) na preparação da solução a ser injetada no cromatógrafo. A figura 2.5.6 ilustra a relação entre as variáveis, área dos flavonóides (corrigida pelo fator de diluição) e concentração de PSA.

Observa-se na figura 2.5.6 que há pontos de inflexão nas curvas que evidenciam a não linearidade, principalmente, a partir da concentração 10 mg/ml dos PSA. Tal fato é corroborado pela observação visual do precipitado, que, a partir desta concentração, se apresenta amarelado. Realizou-se a regressão linear se empregando a faixa de 1 – 10 mg/ml (6 pontos), com exceção da quercetina do PSA40, cujo último ponto foi excluído.

O coeficiente de determinação foi superior a 0,999 para todas as curvas dos flavonóides se excetuando a luteolina (PSA80) que apresentou 0,998 (tabela 2.5.8). Tal fato garante que nesta faixa de trabalho não deve ocorrer fenômeno de saturação dos flavonóides no meio. Embora não se tenha observado desvio da linearidade, heterocedasticidade, ausência de aderência à normalidade dos resíduos ou presença de *outlier*, a matriz parece ser um interferente, pois acarreta erro sistemático para a quercetina (ambos os extratos secos) e para a luteolina (PSA40).

Tabela 2.5.8. Resultados sumarizados das regressões dos marcadores flavonoídicos dos PSA40 e PSA80.

Flavonóide	Parâmetro	Intervalo do intercepto (95% inf; 95% sup.)	Inclinação	r ²	Faixa (mg/ml)
Quercetina PSA40		14395,08 ; 359980,3	811829,4	0,9994	1- 7,5
Quercetina PSA80		182542,2 ; 564446,5	1589063	0,9997	1-10
Luteolina PSA40		51043,19 ; 119661,7	426675,1	0,9999	1-10
Luteolina PSA80		-49352,7 ; 131543,3	250153,7	0,9981	1-10
3-O-metilquercetina PSA40		-319747 ; 485142,2	2115316	0,9994	1-10
3-O-metilquercetina PSA80		-8453,48 ; 363697,4	1434362	0,9997	1-10

r² = coeficiente de determinação.

Mesmo sendo garantida a não saturação das soluções etanólicas, fez-se necessário saber a diferença entre os modos de preparo. Para obter a comparação se

preparou, com três repetições, amostras seguindo o método de Teixeira (1996) para os PSA40 e PSA80, avaliando-se com procedimento por CLAE recentemente validado descrito no manuscrito de artigo contido no item 9.8 do capítulo 8.

Primeiramente, cabe ressaltar a adequação do novo método de CLAE para ambas os modos de preparo dos PSA40 e PSA80 (figuras 2.5.7 e 2.5.8). Paralelamente ao desenvolvimento do método baseado nas soluções extrativas (Capítulo 9) se levou em consideração também o perfil apresentado pelos PSA no ajuste do método. Observa-se por meio dos perfis cromatográficos que a extração proposta por Teixeira (1996) foi mais seletiva para os flavonóides, muito embora ambas tenham mostrado grande semelhança qualitativa.

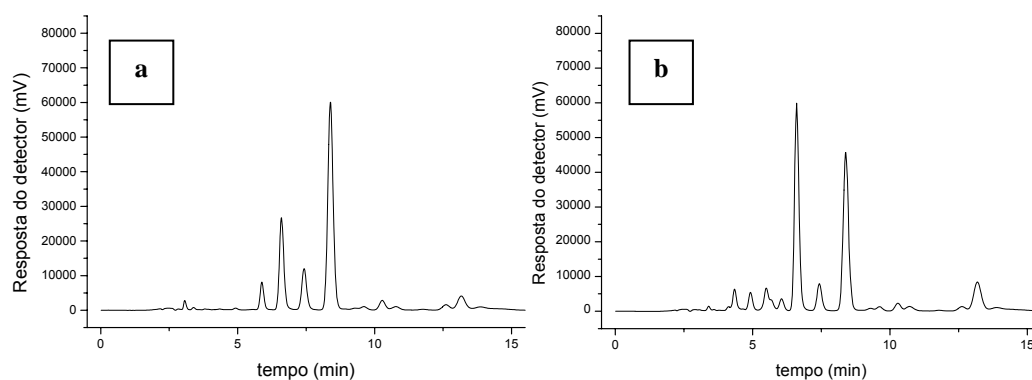


Figura 2.5.7. Cromatogramas dos PSA40 (a) e PSA80 (b) extraídos por extração seletiva com acetato de etila.

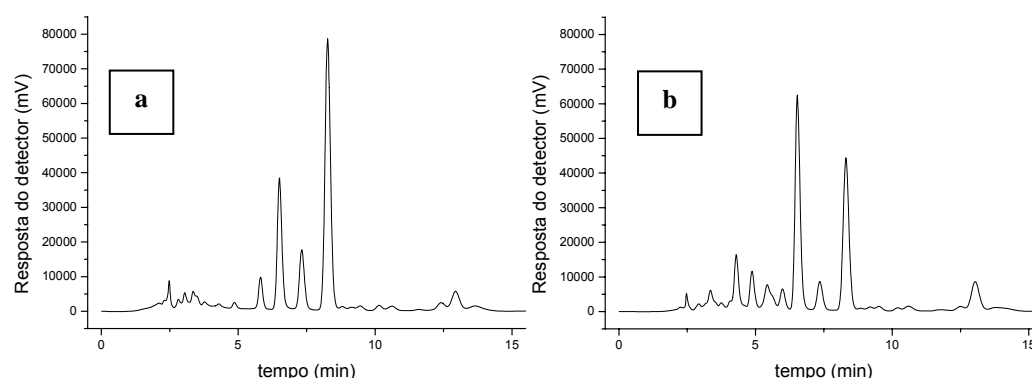


Figura 2.5.8. Cromatogramas dos PSA40 (a) e PSA80 (b) extraídos por dissolução com solução hidroalcolica.

A despeito da semelhança dos perfis cromatográficos, a quantificação aponta para um aumento substancial na concentração de flavonóides no novo modo de preparo. Tal fato evidencia a menor capacidade de recuperação dos flavonóides do

método de extração por acetato de etila quando comparada ao método baseado na dissolução do extrato seco com solução hidroalcoólica (tabela 2.5.9). A 3-*O*-metilquercetina foi quantificada por meio da curva analítica da luteolina resultando na concentração aparente.

A bichalcona para o PSA80 e o pico anterior ao da quercetina para o PSA40 apresentaram, respectivamente; 65,96 % e 66,61 % de recuperação, quando comparados o modo de preparo por extração e por dissolução. Novamente, esses resultados vêm reafirmar a superioridade deste último.

Tabela 2.5.9. Avaliação comparativa entre os resultados das concentrações dos flavonóides quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina nos PSA40 e PSA80 nos dois modos de preparo da amostra.

Flavonóide	Quercetina ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	Luteolina ($\mu\text{g}/\text{mg}$)	3- <i>O</i> -metilquercetina ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Amostra	média (dpr %)	média (dpr %)	média (dpr %)
PSA40 dissolução	13,60 (1,47)	7,46 (1,42)	36,05 (0,93)
PSA40 extração*	9,37 (2,80)	5,00 (1,33)	27,09 (1,68)
PSA80 dissolução	27,43 (0,51)	4,39 (0,85)	25,70 (0,85)
PSA80 extração*	19,60 (1,26)	3,10 (2,13)	19,72 (1,33)
Recuperação comparativa	(%)	(%)	(%)
PSA40 extração*	68,90	67,05	75,15
PSA80 extração*	71,47	70,72	76,73

* modo de preparo da amostra de PSA para CLAE baseado no método proposto por de Teixeira (1996).

O PSA80 mostrou resultados semelhantes aos obtidos por Holzschuh (2008) com o modo de preparo por extração. As concentrações encontradas foram de 18,46; 2,8; 42,52 $\mu\text{g}/\text{mg}$ para, respectivamente, a quercetina, luteolina e a 3-*O*-metilquercetina no PSA80. A grande diferença entre os trabalhos para a concentração de 3-*O*-metilquercetina se deve à obtenção da concentração real por Holzschuh (2008) visto que quantificou a partir da curva padrão deste flavonóide isolado e purificado. Quando se emprega a curva da luteolina para obter a concentração aparente da 3-*O*-metilquercetina se obtém valor de 15,36 $\mu\text{g}/\text{mg}$, equiparável ao obtido.

O PSA40 não pode ser comparado com os dados obtidos por Petrovick (2006) devido à elevada divergência de ambos, atribuídas, em parte, a forma de expressão dos resultados e a curvas analíticas diferentes.

Deste modo, não se pode avaliar o efeito do armazenamento na concentração dos componentes flavonoídicos. A comparação dos resultados obtidos com os trabalhos precedentes (produtores dos extratos seco) foi impossibilitada devido à possibilidade de não se ter extraído completamente os flavonóides o que pode causar um sério viés a análise.

De qualquer forma o perfil cromatográfico pode ser comparado qualitativamente e não se observou aparecimento de outros sinais tanto com o método cromatográfico antigo quanto com o novo. O último pico atribuído em ambos os extratos secos à bichalcona (4,2',4'',2'''-tetraidróxi-6',6'''-dimetóxi-4'-O-4'''-bichalcona), entretanto, demonstrou patente diminuição, corroborando com os dados de estabilidade (HOLZSCHUH, 2008).

A incapacidade de extrair totalmente os flavonóides pode explicar, pelo menos parcialmente, o elevado aumento da quercetina durante o teste de estresse para os PSA (HOLZSCHUH, 2008). O maior percentual de concentração apresentado pela pesquisadora no teste de estresse para o PSA80 foi de 142,3 % após 2 dias. Este coincide com o valor de 139,9 % obtido no presente trabalho para o percentual de aumento proporcionado pelo modo de preparo de dissolução.

A elevada temperatura pode favorecer uma dessorção deste flavonóide de estruturas poliméricas (ex. polissacarídeos) ou /e com elevada área superficial (dióxido de silício coloidal). A explicação para o aumento de quercetina no ensaio de estabilidade de Holzschuh (2008) pode residir no efeito da temperatura sob a estrutura dos adsorventes que, por sua vez, resulta na diminuição da interação física dos mesmos com o flavonóide, tornando-o disponível para a extração com acetato de etila. Entretanto a presença de heterosídeos de quercetina, embora ainda não tenha sido adequadamente comprovada, não pode ser totalmente descartada.

O desvio padrão das determinações dos PSA ratifica a boa repetibilidade do modo de preparo por dissolução para a avaliação quantitativa pelo método cromatográfico utilizado.

2.6 CONCLUSÕES

- Os produtos secos por aspersão utilizados no presente estudo demonstraram propriedades tecnológicas deficientes, advindos de suas pequenas dimensões e elevada área superficial específica, necessitando outras etapas de processamento a fim de serem empregados na produção de comprimidos.
- A despeito das diferenças inerentes às soluções extrativas originárias, tais como densidade e pH aparente, os PSA apresentaram similares características quanto a distribuição granulométrica, área superficial específica, estabilidade de empacotamento e propriedades reológicas.
- A metodologia desenvolvida por CLAE se mostrou adequada para a quantificação dos compostos flavonoídicos marcadores. No preparo das amostras para o CLAE, no entanto, o processo extrativo demonstrou não recuperar completamente os marcadores, necessitando, desta forma, o desenvolvimento de um método de preparo alternativo. Este último, por sua vez, recuperou completamente os flavonóides dentro de uma ampla faixa de concentração.

2.7 REFERÊNCIAS

AULTON, M.E. Secagem. In: AULTON, M. E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 26, p. 384-401.

BASSANI, V.L. **Valorisation de formes galéniques végétales désalcoolisation et concentration des solutions extratives sur membrane d'osmose inverse**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas). Montpellier: Faculté de Pharmacie, 1990.

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

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

CAPELA, M.V.; MAGNANI, R.; ADORNO, A.T.; CAPELA, J.M.V. Comparação do ajuste dos modelos de MORGAN-MERCER-FLODIN e de JOHNSON-MEHL-AVRAMI na reação de precipitação na liga Cu-3%Al-5%Ag. **Ecletica Química**, v. 26, p 197-207, 2001. [cited 2009-03-09]. Disponível em: <<http://www.scielo.br/scielo>>

php?script=sci_arttext&pid=S0100-46702001000100015&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 12 nov. 2009.

CHARNET, R.; FREIRE, A.D.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de Modelos de Regressão Linear com Aplicações**. Campinas: Unicamp, 1999.

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

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

DA SILVA, D.M. **Desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida contendo extrato padronizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2003.

DA SILVA, W.B. **Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para a matéria-prima vegetal e solução extrativa de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1999.

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

DE SOUZA, K.C.B. **Avaliação biológica de preparações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

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

EUROPEAN PHARMACOPEIA. 3. Amtliche Deutsche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1997. 1777p.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed., São Paulo: Atheneu, 2003. PT. 2 Fasc. 5.

FOSTER, T.P.; LEATHERMAN, M.W. Powder characteristics of proteins spray-dried from different spray-dryers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 15, p. 1705-1723, 1995.

GUTERRES, S.S. **Influência de adjuvantes sobre características farmacêuticas de cápsulas de gelatina dura contendo hidroclorotiazida.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1990.

GUYOT, J.C.; ARNAUD, P.; BECOURT, P.; CASSIERE, J. P.; CHULIA, D.; DUCHÊNE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, C.; MALFROID, F.; POURCELOT, Y.; RENOUX, R.; SERGOT, S., TOURE, P. Commentaires relatives aux methods generals d'analyse des forms orales solides récemment introduites dans les pharmacopées française et européenne. Rapport d'une commission SFSTP. **S. T. P. Pharma Pratiques**, v. 5, n. 6, p. 482-494, 1995.

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

HOLZSCHUH, M.H. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteracea.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

LABUCKAS, D.O.; MAESTRI, D.M.; GROSSO, N.R.; ZYGADLO, J.A. Essential oils of *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline alata* and *Achyrocline tomentosa*. **Planta Medica**, v. 65, p. 184-186, 1999.

LANTZ, R.J. Size reduction. In: LIEBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (Ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 2, cap. 3, p. 107-199.

LEMOSES-SENNA, E.M.T. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

LIEBERMAN, H.A.; LACHMAN, L. (ED.). **Pharmaceutical Dosage Forms: tablets.** New York: Marcel Dekker, 1980. 1V.

LIST, P.H.; SCHMIDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology.** Boca Raton: CRC, 1989.

LOWELL, S.; SHIELDS, J.E. **Powder surface area and porosity.** 3ed. London: Springer, 1991. 250p. Disponível em: <http://books.google.com/books?id=3qK1czSv0iYC&printsec=frontcover&hl=pt-BR&source=gbs_summary_r&cad=0>. Acesso em 13 mar. 2009.

MALISKA, A.M. **Microscopia Eletrônica de Varredura.** Florianópolis: UFSC, 2004. Disponível em <http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_index.htm>. Acesso em 11 mar. 2009.

MERCER, L.P.; FLODIN, N.W.; MORGAN, P.H. New methods for comparing the biological efficiency of alternate nutrient sources. **Journal of Nutrition**, v. 108, p. 1244-1249, 1978.

MORGAN, P.H.; MERCER, L.P.; FLODIN, N.W. General model for nutritional responses of higher organisms. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 72, n. 11, p. 4327-4331, 1975.

METZ, F. The surface area of magnesium stearate: an example for a complex analysis task. In: MÜLLER, R.H.; MEHNERT, W. (Ed.). **Particle and surface characterization methods**. Stuttgart: Medpharm Scientific., 1997. Cap.13, p. 209-213.

PARROT, E.L. **Pharmaceutical Technology: fundamental pharmaceutics**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1970. 415p.

PARTHIRANA, W.K.; GUPTA, B.K. Determination of angle of repose by shadow tracing method. **Canadian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 1, p. 30-32, 1976.

PETROVICK, G.F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

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

REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelo de regressão não-linear. **Revista Ceres**, v. 50, n. 287, p. 9 - 26, 2003.

SCHOOFS, T. Surface area analysis of finely divided and porous solids by gas adsorption measurements. In: MÜLLER, R.H.; MEHNERT, W. (Ed.). **Particle and surface characterization methods**. Stuttgart: Medpharm Scientific, 1997. Cap.11, p. 185-197.

SIMÕES, C.M.O. **Investigações químico-farmacológica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Farmácia) -: Curso de Pós-graduação em Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, 1984.

SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; BAUER, L.; LANGELOH, A. Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Compositae. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 22, p. 281-293, 1988.

SOARES, L.A.L. **Padronização do extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. – Euphorbiaceae (Quebra-Pedra)**. 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. **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 em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

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

SONAGLIO, D.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES e col. **Farmacognosia da planta ao medicamento.** 5.ed. Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, 2003. Cap 13, p. 289-326.

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

STANIFORTH, J. Análise do tamanho de partículas. In: AULTON, M. E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005a. Cap.10, p.162-176.

STANIFORTH, J. Fluxo de pós. In: AULTON, M. E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005b. Cap. 14, p. 208-221.

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 (Marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

VILA JATO, J.L. (Ed.) **Tecnología farmacêutica.** Madrid: Síntesis, 2001. 2v.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf,** 10., vollst. überab. Aufl., Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2005.

ZORZI, G.K. **Nanoemulsões contendo solução extrativa de *Achyrocline satureioides*: formulação, permeação cutânea e atividade antioxidante.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas , UFRGS, Porto Alegre, 2007.

WELLS, J.I. **Pharmaceutical preformulation: the physicochemical properties of drug substances.** London: Ellis Horwood, 1988.

WELLS, J.I. Pré-formulação farmacêutica. In: AULTON, M. E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 8, p. 124-148.

3 CAPÍTULO 2: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS BRIQUETES

3.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

Na granulação por via seca, as partículas pulveréas primárias são agregadas sob pressão, por meio da compactação em rolos ou em máquina de comprimir (SUMMERS e AULTON, 2005). Quando comparada à máquina de comprimir, a compactação em rolos tem apresentado maiores vantagens oriundas da sua maior produtividade, maior economia, menor chance de contaminação cruzada, maior controle sobre os parâmetros operacionais (ex. *dwell time*) e necessidade de mínima lubrificação (KLEINEBUDDE, 2004; MILLER, 1997). No entanto, máquinas de comprimir são de mais fácil manejo e maior robustez processual (SOARES, 2002).

Independente do modo de compactação empregado, a dupla exposição à pressão (compactação na obtenção dos granulados e na compressão dos mesmos) acarreta diminuição das características compressionais dos seus constituintes, notadamente, redução da comprimibilidade (HERTING e KLEINEBUDDE, 2008). Além disso, muitas vezes, pressões excessivas são obtidas para aumentar a coesão de certos materiais e resultam em prolongamento do tempo de dissolução (VILA JATO, 2001).

Apesar dessas inerentes desvantagens, o emprego da granulação por via seca se justifica para substâncias instáveis à água, higroscópicas, termossensíveis (devido ao tempo de secagem) ou excessivamente solúveis nos líquidos de molhagem/umidificação, próprios da granulação por via úmida (PRISTA, 2003; VILA JATO, 2001). Os extratos secos de origem vegetal, comumente, apresentam uma ou mais destas características. Outrossim, face à baixa densidade e à presença de problemas reológicos nos produtos secos por aspensão advindos de soluções extrativas vegetais, diversos pesquisadores vêm empregando a granulação por via seca objetivando contornar estes obstáculos (COUTO, 2000; SOARES e col., 2005; DE SOUZA, 2004; SPANIOL, 2007; PETROVICK, 2006).

Mesmo não havendo a mesma exigência de uma formulação para a produção de comprimidos, o complexo farmacêutico deve possuir boas propriedades reológicas e compressionais para a formação dos briquetes com adequada uniformidade. Desta

maneira, o emprego de adjuvantes tecnológicos, tais como lubrificantes (antiaderente e deslizante) e aglutinantes secos, comumente, se faz necessário (VILA JATO, 2001).

A formação de compactos por máquina de comprimir, no entanto, devido à similaridade em relação à produção de comprimidos possibilita antever propriedades compressionais do complexo farmacêutico por meio da caracterização dos lingotes gerados.

3.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Produzir e caracterizar tecnologicamente briquetes de produtos secos obtidos a partir das soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % e 80 % das inflorescências de *Achyrocline satureioides*, visando a obtenção de comprimidos.

3.3 REVISÃO DO TEMA

As características dos compactos são essenciais tanto para o processo quando para os granulados resultantes. Estes devem possuir elevada resistência mecânica, distribuída homogeneamente em sua estrutura, a fim de gerar a menor quantidade de finos possível. A força empregada na compactação conduz a densificação por deformações plásticas, isotrópicas ou anisotrópicas, bem como fragmentativas que aumentam a zona de contato interparticular e favorecem as atrações por forças de van der Waals pela redução das distâncias. Embora as ligações intermoleculares sejam as maiores responsáveis pela resistência dos compactos, outros partícipes são as pontes sólidas, o interchaveamento estrutural e o entrelaçamento de estruturas filiformes. As pontes sólidas podem ser formadas pela cristalização ou por fusão decorrente da formação de deformações plásticas e atritos que geram focos pontuais de alta temperatura em materiais com baixa condutividade térmica (NYSTRÖM e col., 1993; COUTO e col., 2000).

Petrovick (2006) empregou duas formulações de produto seco por aspersão de *Achyrocline satureioides* a partir de solução extrativa hidroalcoólica a 40 % (PSA40) para a obtenção de compactos. A formulação, baseada no trabalho de De Souza (2004), era constituída por 99 % de PSA40 e 1 % (m/m) de estearato de magnésio,

resultou em compactos com indícios de elevada higroscopicidade, deformação plástica anômala durante a mensuração da dureza, ocasionando altos valores, e elevado tempo de desintegração (acima de 30 min). Outra formulação, que teve como base a formulação de Couto (2000), continha 69,2 % de PSA40; 27,6 % celulose microcristalina; 2,2 % dióxido de silício coloidal e 1 % (m/m) de estearato de magnésio. Esta última demonstrou boas características mecânicas e baixo tempo de desintegração (inferior a 6 min) sendo escolhida para a granulação.

As melhores características da formulação de Couto se devem, em especial, à presença de celulose microcristalina, que concede boas características compressionais à formulação, desintegrantes (ao ser empregada acima de 20 %, m/m) e alto potencial de diluição (BOLHUIS e CHOWHAN, 1996; PETROVICK, 2006).

O baixo tempo de desintegração apresentado pelos briquetes da formulação eleita por Petrovick, ainda assim não garantem a desintegração e cedência dos ativos dos comprimidos finais provenientes dos granulados desses briquetes. A fim de aumentar a velocidade de desintegração dos comprimidos finais e, por conseguinte a dissolução das agliconas flavonoídica, uma das alternativas possíveis é o emprego de desintegrante na formulação dos briquetes.

3.4 PARTE EXPERIMENTAL

3.4.1 Materiais

O PSA40 e o PSA80 utilizados neste trabalho foram obtidos, respectivamente, nos trabalhos de Petrovick (2006) e Holzschuh (2008). A celulose microcristalina (Microcel[®] MC 101, Blanver, Cotia/Brasil, lote 221/05)¹, dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200, Evonik-Degussa, Frankfurt/Alemanha, lote c22111II), amidoglicolato de sódio (Explosol[®], Blanver, Cotia/Brasil, lote 19201/97)¹ e estearato de magnésio (Acros Organics, New Jersey/USA, lote A0235781) foram os adjuvantes empregados na constituição dos complexos farmacêuticos para produção de briquetes.

¹ O autor agradece à Colorcon do Brasil a doação dos adjuvantes.

3.4.2 Equipamentos², acessórios e correlatos

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

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

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

Durômetro Schleuninger 2E;

Durômetro Nova Ética, 298-AT (CDTF/UFRGS)²;

Estufa DeLeo (LACER/UFRGS)²;

Friabilômetro Roche J. Engelsmann, de acordo com Farmacopéia (1988);

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

Microscópio óptico Jena;

Micrômetro digital Mitutoyo 0 – 25 mm / 1”;

Misturador tipo cúbico Erweka KM5 acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

Picnômetro de hélio Quanta Chrome modelo MVP1 (LACER/UFRGS)²;

Software estatístico Minitab[®] versão 14;

Software livre para processamento e análise de imagens ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) disponível em www.rsweb.nih.gov/ij;

3.4.3 Métodos

3.4.3.1 Produção dos compactos

Para a produção de briquetes contendo alto teor de PSA40 e PSA80 se utilizou a formulação que obteve as melhores características tecnológicas de acordo com Petrovick (2006), acrescida do desintegrante amidoglicolato de sódio. Este foi escolhido pelo seu potente efeito no tempo de desintegração em baixas concentrações (entre 0,5 – 5 %), bem como pelo seu bom comportamento compressional e suas características extensamente conhecidas (SOARES e PETROVICK, 1999; VELASCO e col., 1994; COUTO, 2005).

² O autor agradece a disponibilização dos equipamentos.

A formulação foi constituída, ponderalmente, de 68,5 % de produto seco (PSA), 28,0 % de celulose microcristalina, 2,0 % de dióxido de silício coloidal, 1,0 % de estearato de magnésio e 0,5 % de amidoglicolato de sódio. O PSA, o material de enchimento/aglutinante seco (celulose microcristalina) e o desintegrante (amidoglicolato de sódio) foram misturados, após passagem em tamis de 106 µm, durante 15 minutos em misturador tipo cúbico a 36 rpm. Posteriormente, adicionou-se a mistura lubrificante (estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal), continuando-se a mistura por mais 5 minutos.

A fim de comparação com os dados de Petrovick (2006) e elucidação da influência do desintegrante na formulação, produziu-se lote experimental de briquetes de PSA40 sem a presença de amidoglicolato de sódio (BF40SA). O PSA40 e a celulose microcristalina tiveram suas concentrações ponderais alteradas para, respectivamente, 68,85 % e 28,15 %. Os procedimentos de mistura e de compressão, bem como os ajustes da máquina alternativa foram semelhantes aos empreendidos na obtenção dos briquetes de PSA40.

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

3.4.3.2 Caracterização dos compactos

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

Avaliaram-se aspectos visuais, tais como homogeneidade de coloração e textura da superfície. As colorações nas faces dos briquetes foram avaliadas por meio de imagens fotográficas. Para tal, os briquetes foram centralizados dentro de uma caixa cúbica com luminosidade constante e controlada (lâmpadas de 15 W, Empalux), a fim de manter as condições experimentais invariáveis entre as fotografias (RUPPENTHAL e col., 2007). A amostragem para cada formulação foi de 3 briquetes que tiveram as suas faces superior e inferior fotografadas com câmera digital posicionada a 23 cm de

distância dos mesmos. As imagens obtidas foram diretamente avaliadas por programa computacional, sendo as medidas de coloração realizadas por meio do padrão de coloração RGB.

Com auxílio de paquímetro digital se mensurou a espessura e o diâmetro de 20 compactos 24 h após a compressão.

3.4.3.2.2 Determinação do peso médio (FARMACOPÉIA, 1988) e densidade aparente (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002)

Realizou-se a pesagem individual, em balança analítica de 35 compactos do complexo farmacêutico PSA40 (BF40); e 20 compactos para o complexo farmacêutico do PSA80 (BF80). A densidade aparente (ρ_{ap}) foi calculada se utilizando a equação 3.1.

$$\rho_{ap} = \frac{m}{\pi \cdot r^2 \cdot h} \text{ (eq. 3.1)}$$

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

3.4.3.2.3 Determinação da dureza (FARMACOPÉIA, 1988) e da resistência à tensão radial (FELL e NEWTON, 1970; MURAKAMI e col., 2001; ALDEBORN, 2005)

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

Com os dados provenientes da dureza, bem como das dimensões dos mesmos, obteve-se o valor de resistência à tensão por meio da equação 3.2,

$$\sigma = \frac{2 \cdot F}{\pi \cdot d \cdot h} \text{ (eq. 3.2)}$$

onde, F é a força de esmagamento radial (Newton), e d e h , respectivamente, o diâmetro (cm) e a espessura (cm) do compactos cilíndrico de faces planas.

3.4.3.2.4 Determinação da densidade real calculada (COUTO, 2005); densidade relativa (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002) e porosidade (MURAKAMI e col., 2001)

A densidade real calculada (ρ_{calc} ; g/cm³) e a densidade relativa (D) foram obtidas, respectivamente, empregando-se as equações 3.3 e 3.4,

$$\rho_{calc} = \sum \rho_i \cdot c_i \text{ (eq. 3.3);}$$

$$D = \frac{\rho_{ap}}{\rho_{calc}} \text{ (eq. 3.4);}$$

nas quais, ρ_i = densidade real de cada componente da formulação; c_i = proporção dos componentes dentro da formulação, ρ_{ap} = densidade aparente.

A porosidade foi calculada a partir da subtração de uma unidade pela média da densidade relativa de 20 briquetes sendo expressa em porcentagem.

3.4.3.2.5 Determinação do volume de recuperação elástico dos compactos (LIONÇO e col., 2002; modificado)

Com o auxílio de paquímetro, realizou-se a medida da distância entre as superfícies das coroas de compressão dos punções, posicionados na fase da compressão onde os punções possuem a menor distância entre si, com a máquina de comprimir desprovida de mesa e matriz. Para o cálculo do volume da câmara de compressão (mm³) no momento de compressão (V_{cp}) e do volume de recuperação (V_r), utilizaram-se as equações 3.5 e 3.6,

$$V_{cp} = \pi \cdot r_m^2 \cdot (\Delta_p + F_{acs} + F_{acl}) \text{ (eq. 3.5);}$$

$$V_r = \frac{(V_c - V_{cp}) \cdot 100}{V_c} \text{ (eq. 3.6);}$$

onde, r_m = raio da matriz (mm), Δ_p = distância mínima entre as coroas dos punções no momento da compressão (mm); F_{acs} = dimensão da faceta do punção superior; F_{acl} =

dimensão da faceta do punção inferior; V_c = volume do compacto (mm^3) 24 h após a compressão.

3.4.3.2.6 Determinação da friabilidade (FARMACOPÉIA, 1988)

Com o auxílio do friabilômetro tipo Roche, à velocidade de 20 rpm, 10 compactos, livres de pós, foram submetidos à queda e ao atrito durante 5 min e, após retirada de possíveis partículas finas, obteve-se a friabilidade pelo cálculo do percentual de perda ponderal do material.

3.4.3.2.7 Avaliação do tempo de desintegração (FARMACOPÉIA, 1988)

O tempo de desintegração dos compactos foi realizado em água, a 37 °C e o resultado expresso em tempo pela média de 6 determinações.

Apenas os itens 3.4.3.2.1, 3.4.3.2.2, 3.4.3.2.3 e 3.4.3.2.7 foram avaliados nos briquetes de BF40SA.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Prista (2003), quando o compacto proveniente de compressoras tem, como objetivo, a formação posterior, por desagregação, de granulados se dá preferência para punções com grande diâmetro e produtos com alta resistência mecânica. Desta maneira, para que fossem cumpridas essas recomendações se utilizaram punções de 15 mm. Os compactos com maior diâmetro e menor espessura facilitam a fratura dos mesmos, bem como a dureza superior a 50 N limita a produção de finos no processo de granulação.

A despeito dessas recomendações, as forças empregadas na compressão foram ajustadas para que não ocorresse o escurecimento dos briquetes, visto que o mecanismo ainda não estava desvendado e poderia ter influência negativa tanto no ponto de vista da terapêutica, quanto tecnológico, assim como, notadamente, organoléptico.

A produção dos briquetes foi realizada sob umidade ambiental controlada durante a compressão dos complexos de PSA (48 – 56 % umidade).

Os briquetes do PSA40 foram produzidos em dois lotes (dias diferentes) sob as mesmas condições da máquina de comprimir (posições do punção superior = 4,5 mm; punção inferior = 9 mm). A somatória dos lotes resultou em 1,09 kg de briquetes. O rendimento resultante foi de 92,46 %. A perda de aproximadamente 7,5 % deveu-se, em parte, ao ajuste inicial da máquina, controle ao longo do processo do mesmo e o baixo nível do complexo farmacêutico de briquete (BF) no alimentador ao final do processo.

Na compressão do complexo farmacêutico do PSA80 (BF80), para que fosse diminuída a variabilidade presente na produção de dois lotes, produziu-se apenas um lote. O rendimento resultante foi de 93,02 %, totalizando 1,02 kg de briquetes. Quanto ao ajuste da máquina alternativa, foi necessário um maior abaixamento do punção inferior (10 mm) quando comparado ao BF40 visto que o PSA80 possui menor densidade. Para ajuste da resistência mecânica posicionou-se a penetração do punção superior para cerca de 5 mm.

Durante a compressão dos BF não houve aderência à face dos punções e à superfície interna da matriz, muito embora, ao final da compressão dos dois lotes de BF40 se observou uma fina camada da formulação aderida à lateral do punção superior. Esta ocorrência não comprometeu a forma nem a textura dos briquetes. Os eventos de laminação, percolação e escurecimento também não foram visualmente observados.

Empregando a medida da coloração RGB por meio do *software* imageJ a partir de fotos tiradas dos compactos sob condições controladas de luminosidade, pode se avaliar quantitativamente esse aspecto, comumente, subjetivo. Dada a semelhança entre os histogramas de coloração RGB dos outros briquetes de BF40, bem como de BF80, foi possível com a figura 3.5.1 representá-los adequadamente.

Os dados mostraram grande similaridade entre as faces dos briquetes quanto à coloração. Tal fato confirma a ausência do fenômeno de percolação e/ou escurecimento diferenciado entre as faces. Outrossim, os histogramas de coloração RGB nas três coordenadas demonstraram distribuição da coloração unimodal e,

relativamente, estreita o que denota homogeneidade da distribuição dos constituintes do briquete e ausência de incipiente escurecimento.

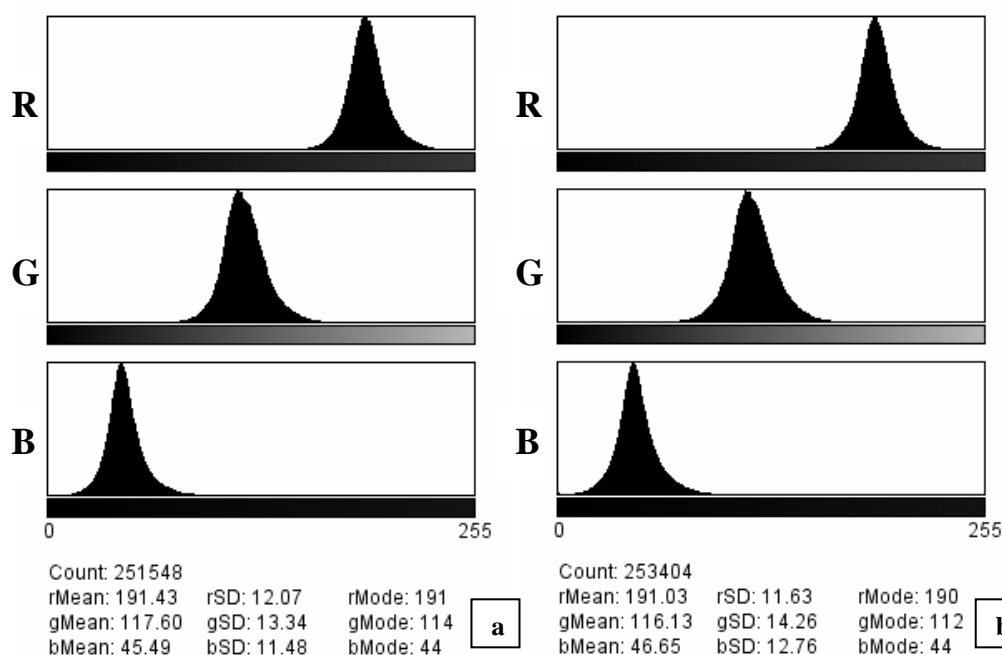


Figura 3.5.1. Face inferior (a) e face superior (b) de briquete de BF40 nas três coordenadas do padrão R (*RED*), G (*GREEN*) e B (*BLUE*).

Mesmo não possuindo critérios de qualidade preconizados pela Farmacopéia Brasileira caracterizaram-se os briquetes com os ensaios dirigidos para comprimidos, cujos resultados encontram-se expressos nas tabelas 3.5.1 e 3.5.2.

Tabela 3.5.1. Comparação das características morfológicas e ponderais dos briquetes PM = peso médio; H = espessura; D = diâmetro; Dap = densidade aparente.

Amostra \ Ensaios	Briquetes de BF40 Média ± s (dpr %)	Briquetes de BF80 Média ± s (dpr %)	Briquete de BF40* Média ± s (dpr %)
PM (mg)	608,54 ^a ± 9,27 (1,52)	612,10 ^a ± 3,46 (0,56)	660 ^c ± 3,500 (0,53)
H (mm)	3,110 ^a ± 0,016 (0,52)	3,408 ^b ± 0,007 (0,22)	3,546 ^c ± 0,008 (0,23)
D (mm)	15,02 ^a ± 0,025 (0,17)	15,04 ^b ± 0,007 (0,05)	15,09 ^c ± 0,026 (0,17)
Dap (g/cm ³)	1,103 ^a ± 0,016 (1,49)	1,010 ^b ± 0,007 (0,71)	1,016

* Calculado a partir dos dados de Petrovick (2006). Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$).

A título de comparação foram avaliados os dados provenientes dos briquetes contendo PSA40 produzidos por Petrovick (2006), cuja formulação e resultados serviram de guia para o presente estudo. Além de outros ajustes realizados na máquina

alternativa (posicionamento dos punções inferior e superior), a formulação deste apresenta distinção qualitativa visto não possuir amidoglicolato de sódio.

Seguindo os critérios para comprimidos, realizou-se a determinação do peso médio dos compactos. Devido à presença de 2 lotes do BF40, 35 compactos foram avaliados sendo a amostragem estratificada. Realizou-se uma amostragem aleatória simples de cada lote proporcional ao tamanho do mesmo. A amostragem do peso médio para os briquetes de BF80 foi simples de 20 compactos.

Os briquetes de BF40 por se apresentarem dentro dos limites farmacopéicos para peso médio ($\pm 5\%$), tiveram seus dois lotes reunidos em apenas um. Nota-se claramente o menor coeficiente de variação do BF80, provavelmente, advindo da presença de apenas um lote. Os resultados da tabela 3.5.1 evidenciam que o peso médio dos compactos de BF40 e BF80 é estatisticamente igual.

A densidade aparente dos briquetes foi estatisticamente diferente devido predominantemente à grande diferença de espessura entre os comprimidos. Tal fato é explicado parcialmente pela maior densidade real do PSA40 com relação ao PSA80. Além disso, a diferença de ajuste na máquina de comprimir influi fortemente nessa característica.

Tabela 3.5.2. Comparação das características tecnológicas dos briquetes. D= dureza; RT= resistência à tensão; P= porosidade; VR= volume de recuperação.

Amostra \ Ensaio	Briquetes de BF40 Média \pm s (dpr %)	Briquetes de BF80 Média \pm s (dpr %)	Briquete de BF40* Média \pm s (dpr %)
D (N)	65,81 \pm 8,34 (12,67)	88,87 \pm 7,23 (8,13)	99,30 \pm 7,642 (7,70)
RT (N/mm ²) **	0,903 ^a \pm 0,116 (12,82)	1,103 ^b \pm 0,091 (8,27)	1,180
P (%)	29,75 ^a \pm 1,38 (4,70)	33,57 ^b \pm 0,47 (1,40)	N.D.
VR (%)	44,89 ^a \pm 0,21 (0,48)	50,94 ^b \pm 0,13 (0,26)	N.D.

* Calculado a partir dos dados da dissertação de Petrovick (2006). Médias seguidas pela mesma letra, na linha, não diferem pelo teste *t de Student* ($\alpha = 0,05$) presumindo duas variâncias diferentes. ** *Test t de Student* ($\alpha = 0,05$) presumindo duas variâncias iguais. N.D.= não determinado.

Os parâmetros da máquina de comprimir, para a obtenção dos briquetes do BF40 foram ajustados para resultar em dureza superior a 50 N e, preferencialmente inferior a 80 N, visto que acima deste valor inicia visualmente o escurecimento da porção central, e, principalmente, das laterais dos compactos. O maior escurecimento

ocorrido nas laterais denota a elevada força de ejeção presente na produção de briquetes com dureza superior a 80 N. A dureza média observada foi superior aos 50 N e nenhum compacto saiu do intervalo previamente estipulado.

O desvio padrão elevado se deve as características reológicas deficientes que podem provocar a variabilidade no peso que por sua vez se reflete amplificada na dureza. A despeito do peso médio estar dentro dos limites preconizados pelo código oficial, os complexos farmacêuticos possuem evidente necessidade de melhorias tecnológicas quanto ao seu fluxo, haja vista a elevada sensibilidade da dureza com relação ao peso médio, notadamente, no BF40 (tabelas 3.5.3, 3.5.4, e 3.5.5).

Tabela 3.5.3. Análise estatística de correlação entre o peso e a dureza dos briquetes obtidos da compressão dos complexos farmacêuticos BF40 e BF80

Briquete	x	y	r	t	n
BF 40	Peso (mg)	Dureza (N)	0,8663	7,35	20
BF 80	Peso (mg)	Dureza (N)	0,5568	2,84	20

x,y = parâmetros de avaliação; r = coeficiente de correlação; t= erro padrão de r; $t^{\alpha(GL)} = t_{0,05(n-2)} = 2,101$.

Tabela 3.5.4. Dados da análise da variância da regressão linear da relação entre peso e dureza dos briquetes do complexo farmacêutico BF40

Causa de Variação	gl	SQ	MQ	F _{calculado}	p
regressão linear	1	992,90	992,90	54,14*	$7,89 \cdot 10^{-7}$
resíduo	18	330,10	18,34		
<i>Desvio da linearidade</i>	17	328,10	19,30	9,65	0,249**
erro puro		2	2		
total	19	1323,01			

*significativo para $\alpha = 0,05$; F_{crítico} = 4,41; **Sem evidência de desvio de linearidade ($p \geq 0,1$)

Tabela 3.5.5. Dados da análise de regressão linear da relação entre peso médio e dureza dos briquetes do complexo farmacêutico BF40

Constante da reta	Coefficiente $\pm s$	t _{calculado}	t _{0,05(n-2)}	P*
Intersecção (a)	$-331,68 \pm 54,03$	$ -6,14 $	2,101	$8,49 \cdot 10^{-6}$
Inclinação (b)	$0,6516 \pm 0,0885$	7,36	2,101	$7,9 \cdot 10^{-7}$

*P: nível mínimo de significância

A análise dos dados da tabela 3.5.3 demonstra existir forte correlação entre o aumento do peso dos briquetes de BF40 e sua dureza, e correlação regular para os briquetes de BF80 com relação a essas variáveis (CALLEGARI-JACQUES, 2003). A

regressão aplicada aos compactos de BF40 demonstra que 75 % da variação observada na dureza é explicada pela variação do peso dos compactos. Relação similar foi encontrada por Couto (2005) que, para explicar a variabilidade da dureza dos briquetes obtidos com elevada concentração de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. em máquina alternativa, empregou a regressão linear

A inclinação da reta, por relacionar a dureza e o peso, é um adequado indicador da sensibilidade do produto em relação às variações do peso. Utilizando o desvio padrão relativo de 5 %, limite farmacopéico de peso médio, para o valor médio de 610 mg obteve-se uma variação entre 579 e 640 mg para os briquetes de BF40. Calculando-se pela equação da reta, a amplitude de variação encontrada foi de 30,20 % relativa à dureza média, ou seja, seis vezes maior que a amplitude para o peso médio.

De acordo com regressão linear realizada na faixa de trabalho experimental empregada, o desvio padrão relativo esperado para dureza dos briquetes de BF40 com variação de 1,82 % na média do peso seria de 10,98 %. A pequena diferença entre os resultados poderia ser atribuída há outras variáveis não controladas (ex. tempo de aplicação da força de compressão) e aos ajustes matemáticos da regressão linear.

A grande distinção entre as durezas dos dois complexos farmacêuticos não reside no ajuste da máquina de comprimir, pois os briquetes de BF80 foram produzidos para possuir a mesma resistência ao esmagamento radial dos briquetes de BF40. Ao longo do processo de compressão houve controle deste parâmetro de qualidade e diversas mensurações da dureza dos compactos foram realizadas sem que nenhuma amostra saísse dos limites estipulados.

A fim de que a medida da resistência ao esmagamento radial fosse mais fidedigna as características definitivas dos compactos, este teste foi realizado 24 horas após a produção dos mesmos. Tal fato se deve aos fenômenos de recuperação elástica tardia que alteram as dimensões do compacto e, por sua vez, podem modificar a determinação da dureza. Não obstante, a determinação após 24 horas resultou problemática visto que o padrão de fratura foi totalmente modificado.

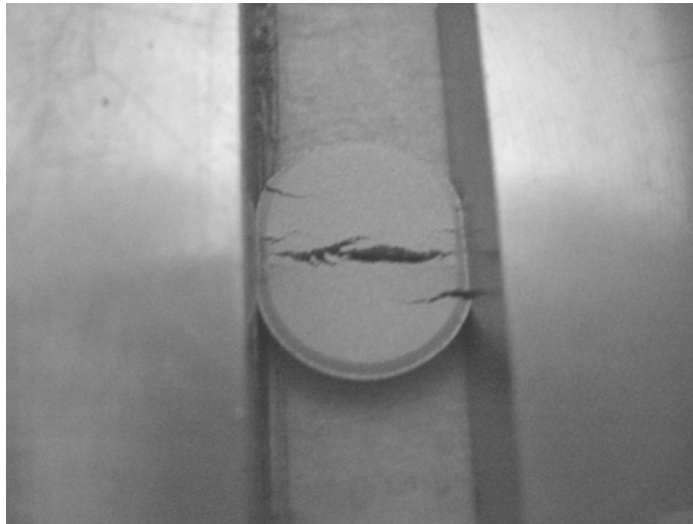


Figura 3.5.2. Comportamento do briquete do BF40 no momento em que o compacto colapsa durante a avaliação da dureza por esmagamento radial

Semelhantemente fato ocorreu com Petrovick (2006), cuja formulação com 99 % de PSA40 e 1% de estearato de magnésio resultou em briquetes que, na análise de dureza, apresentaram valores dureza próxima dos limites máximos do durômetro. Este fato se deveu ao comportamento anômalo do briquete que apresentava deformação plástica lateralmente, mostrando rupturas apenas centrais que não acusavam no durômetro o final da análise. Na realização da dureza para que se obtenham legítimos resultados, o compacto deve se romper ao longo do seu diâmetro paralelamente a carga de compressão, resultando em duas partes similares (ALDERBORN, 2005).

Igualmente, nos briquetes de BF80 do presente trabalho, ocorreu fenômeno atípico ocorreu, não sendo possível visualmente registrar o início da ruptura sem acrescentar um elevado erro analítico. Desta forma, na tabela 3.5.2 (pág. 65) está apresentado o valor dado pelo durômetro como ponto final.

Uma explicação plausível para o fenômeno poderia estar ligada à elevada higroscopicidade do BF80 que, ao longo do processo de compressão (cerca de 10 horas), bem como durante o armazenamento (umidade 50 – 60 %), pode ter ad/absorvido umidade. Sendo assim, interface entre as partículas constitutivas do briquete pode ter sido alterada, modificando o seu padrão de fratura. Outrossim, o aumento de umidade no briquete pode ter elevado ainda mais as características plásticas intrínsecas da formulação. Outro fator que se deve ressaltar é a baixa sensibilidade do durômetro Schleuninger em acusar o ponto final quando comparado

ao durômetro Nova Ética. Este durômetro, por sua vez, aponta o valor final de dureza antes da ruptura central, já no princípio da deformação plástica.

Teste preliminar apontou flagrante aumento da dureza após exposição à ambiente com umidade relativa entre 5 a 10 % (gel de sílica). Utilizou-se o BF80 que havia restado da compressão anterior e procedeu-se a compressão com o mesmo ajuste da máquina. Produziu-se 25 compactos com enchimento manual da câmara de compressão, dos quais 5 compactos aleatoriamente escolhidos não foram expostos ao dessecante (Briquetes controle), 10 compactos foram submetidos à dessorção até 0,62 % do seu peso médio (Briquetes 0,6 %) e os outros 10 compactos até 2,08 % do seu peso médio (Briquetes 2,1 %). Os resultados estão sumarizados na tabela 3.5.6.

Tabela 3.5.6. Estudo preliminar sobre a sensibilidade da dureza dos compactos BF80 à umidade

Amostra	Perda de umidade (%) Média (dpr %)	Peso médio Média (dpr %)	Dureza (N) Média (dpr %)
Briquetes controle	--	608,64 ^a (2,3)	80,2 ^a (4,9)
Briquetes 0,6 %	0,62 (16,0)	613,85 ^a (1,9)	96,7 ^a (11,6)
Briquetes 2,1 %	2,08 (7,6)	612,54 ^a (2,0)	126,9 ^c (12,0)

*médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$).

A umidade demonstrou possuir forte influência sobre os briquetes, sendo que o seu decréscimo resultou em aumento da dureza, especialmente, nos briquetes 2,1 %. A despeito disso, observou-se diminuição da plasticidade durante a mensuração da dureza das formulações com umidade dessorvida.

Sabe-se que a força necessária para a ruptura dos compactos é dependente das dimensões destes. Idealmente o teste deverá permitir comparação entre os compactos de diferentes tamanhos e geometrias. A resistência à tensão pode ser empregada para se obter a força necessária por unidade de área de fratura. Utilizaram-se os dados obtidos da dureza, bem como as dimensões dos compactos, a fim de obter, inicialmente, resultados passíveis de comparação entre os briquetes de BF40 e BF80.

O emprego da resistência à tensão é mais bem descrito pela equação 3.2 quando o compacto sofre uma única fragmentação linear ao longo do diâmetro (DAVIES e NEWTON, 1996). Embora não descreva exatamente uma única linha de fratura (nas

laterais há formação de pequenas fraturas, assim como deformação plástica), por aproximação se pode utilizar esta equação para os briquetes do BF40 (figura 3.5.1). Os resultados obtidos para o briquete do BF80, apesar de negligenciar algumas condições foram também expostos na tabela 3.5.2.

A resistência à tensão, embora tenha aproximado os resultados entre os briquetes, devido à maior espessura dos briquetes de BF80, continuou repercutindo os problemas previamente mencionados na mensuração da dureza.

Na ausência de instrumentalização da máquina de comprimir (ex. transdutores de deslocamento), a análise de recuperação elástica é uma interessante alternativa para se obter informações sobre a deformação elástica da formulação (SPANIOL e col., 2009). A inclusão das facetas dos punções no cálculo do volume de recuperação torna-o mais fidedigno quando comparado à equação proposta por Lionço e colaboradores (2002).

O volume de recuperação elástica foi de 44,89 % e 50,94 %, respectivamente, para os briquetes de BF40 e BF80. Embora o complexo farmacêutico de ambos os extratos tenham apresentado elevada recuperação elástica, o compacto se manteve coeso (sem laminação) o que demonstra formação de ligações estáveis durante a compressão.

A expansão radial se mostrou claramente inferior à expansão axial o que se deve às próprias características inerentes da compressão por máquina alternativa, visto que mesmo antes da ejeção do compacto estes têm possibilidade de expandir axialmente.

Os dados provenientes da porosidade botam em xeque os resultados provenientes da recuperação elástica explicitada na tabela 3.5.2. A porosidade dos comprimidos foi claramente inferior à recuperação elástica, o que denota erro analítico. A densidade real, empregada para obter a porosidade, foi sobrepujada pela densidade presente do BF40 e BF80 no volume mínimo da câmara.

A presença de poros internos, com conseqüente retenção de gases e vapores, pode ocasionar imprecisões e variações nos resultados da picnometria por hélio. No entanto, os resultados foram feitos com repetição e replicação e se tomou cuidado com o preparo da amostra (PARONEN e ILKKA, 1996). Verificou-se por microscopia óptica a ausência de clarividentes indícios de modificação das partículas dos PSA40 e PSA80, após a etapa prévia de dessecação em estufa para a análise em picnômetro de hélio.

Outra possibilidade, ainda que remota, seria da mudança na densidade particular durante a compressão. Do ponto de vista teórico, uma deformação elástica pode ocorrer acarretando uma mudança reversível na densidade, assim como alterações na cristalinidade. No entanto, mudanças elásticas são provavelmente raras e difíceis de demonstrar. Outrossim, os produtos compactados apresentam na formulação substâncias preponderantemente amorfas com deformação, principalmente, plástica e foram obtidos com forças de compressão relativamente pequenas (PARONEN e ILKKA, 1996; PATEL e col., 2006).

A possibilidade mais provável, indubitavelmente, reside na imprecisa mensuração da distância mínima entre os punções. A distância por ser, por vezes, muito pequena pode provocar erro de paralaxe que compromete o experimento. Uma melhor ferramenta para encontrar o volume mínimo da câmara de compressão deve ser obtida para que se possam obter dados com maior exatidão da recuperação elástica dos compactos.

A capacidade de resistir à abrasão e à queda foi avaliada nos compactos. A aplicação do teste de friabilidade visa detectar também fenômenos de laminação ou/capeamento incipientes (ALDERBORN, 2005), e assim pode servir para vislumbrar as características que os granulados provenientes destes briquetes irão conceder aos comprimidos finais. A friabilidade apresentou valores de 0,21 % e 0,29 %, respectivamente, para os briquetes de BF40 e BF80. Os compactos, que apresentaram baixa friabilidade, não apresentaram quaisquer indícios de laminação ou fratura.

As boas características tanto da dureza quanto da friabilidade podem ser fundamentais para garantia de produção de poucos finos e do alto rendimento durante o processo desagregação de briquetes na formação dos granulados.

O teste de desintegração também foi realizado visto estar presente nos códigos oficiais para caracterização dos comprimidos. Esta etapa inicial é essencial dentro da dissolução de comprimidos de liberação imediata, embora não seja garantia de cedência. Problemas de desintegração nos compactos podem ser transferidos para os produtos finais, por tanto, é importante o acompanhamento destas características ao longo do processo. Utilizou-se meio aquoso para melhor comparação com os dados obtidos em outros trabalhos.

Os resultados (tabela 3.5.7) foram inferiores aos máximos preconizados pelo código oficial para comprimidos, não apresentando, nenhum compacto, tempo de desintegração superior a 13 minutos. Apesar de provir de extrato com maior graduação alcoólica, o compacto de BF80 apresentou a desintegração mais rápida, em parte, devido à maior acessibilidade do desintegrante ao meio aquoso advindo da sua maior porosidade.

Tabela 3.5.7. Resultados do teste do tempo de desintegração (TD)

Briquetes	Briquetes de BF40 Média ± s (dpr %)	Briquetes de BF80 Média ± s (dpr %)	Briquete de BF40* Média ± s (dpr %)
TD (min)	11,38 ^a ± 0,67 (5,93)	1,98 ^b ± 0,27 (13,65)	5,79 ^c ± 1,71 (29,56)

* Dados de Petrovick (2006). Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$).

O tempo de desintegração para o briquete de BF40 surpreendeu visto que a maior diferença entre as formulações do presente trabalho e de Petrovick (2006) foi à adição de 0,5 % de amidoglicolato (superdesintegrante) nesta primeira. A suposição inicial era de acontecer um decréscimo no tempo desintegração. O tempo de desintegração na formulação no presente trabalho duplicou quando comparado ao da formulação de Petrovick. Digno de nota é que os briquetes obtidos por aquele pesquisador apresentaram valor de resistência à tensão radial superior ao obtido no presente trabalho.

Tal fenômeno pode ser explicado parcialmente por mudanças advindas dos adjuvantes, tais como a origem da celulose microcristalina e do estearato de magnésio, e um possível aumento da cristalinidade do PSA40. O adequado armazenamento do PSA40, quanto à umidade e temperatura, diminui a chance de ultrapassar a temperatura de transição vítrea. Dessa forma, a última hipótese foi descartada.

O estearato de magnésio já possui abundante descrição da variabilidade apresentada entre produtores e inclusive em lotes diferentes, podendo estar envolvido nesse perfil inesperado da desintegração. Essa variabilidade provém das principais propriedades físico-químicas do lubrificante tal como razão palmitato/estearato, cristalinidade, composição de fase, conteúdo de água e área superficial (BARRA e SOMMA, 1996; ANDRÈS e col., 2001). Apesar de todos esses estudos, uma correlação entre essas características e o seu poder lubrificante assim como sua hidrofobicidade não é fácil de ser obtida devido aos múltiplos fatores envolvidos (VEEN e col., 2005).

A celulose microcristalina possui, entre outras características, ação desintegrante e baixo grau de fragmentação o que a torna muito susceptível ao efeito de deletério de lubrificantes. Igualmente ao apresentado pelo estearato de magnésio, a variabilidade de produtos de celulose microcristalina já foi demonstrada em diversos trabalhos e, teoricamente, pode afetar a sua ação desintegrante devido à diferença de grau de polimerização e cristalinidade decorrentes do seu processo produtivo (LANDIN e col., 1993; WU e col., 2001).

Supondo que estas mudanças tenham afetado a desintegração dos briquetes seria de grande interesse avaliar os briquetes provenientes de complexo farmacêutico sem amidoglicolato para poder constatar qual a influência deste adjuvante nessa característica.

Utilizou-se de similar ajuste da máquina de comprimir em relação às condições empregadas para o BF40. Aproximadamente 300 g de complexo farmacêutico de PSA40 sem amidoglicolato (BF40SA) foram comprimidos. A tabela 3.5.8 mostra os resultados da caracterização dos briquetes de BF40SA.

Tabela 3.5.8. Resultados da caracterização dos briquetes do complexo farmacêutico BF40SA. PM = peso médio; Da = densidade aparente; D = dureza; RT = resistência à tensão; TD = tempo de desintegração.

PM (mg)	Da (g/cm ³)	D (N)	RT (kN/cm ²)	TD (min)
Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)
615,26 ± 4,55 (0,74)	1,18 ± 0,01 (0,91)	68,85 ± 2,21 (3,22)	0,9419 ± 0,031 (3,25)	16,42 ± 0,98 (5,97)

Após a análise de teste F para variância, utilizou-se o teste *t* de *Student* ($\alpha = 0,05$) presumindo variâncias diferentes para as amostras. Com exceção do tempo de desintegração, o restante das características dos briquetes foi estatisticamente semelhante entre os briquetes de BF40 com e sem amidoglicolato. Com esses resultados fica explicitada a importância e funcionalidade do desintegrante nesta formulação. Além disso, tal fato evidencia a importância do estudo pormenorizado dos adjuvantes (variação entre fabricantes e entre lotes) prévio a qualquer formulação.

3.6 CONCLUSÕES

- Os compactos produzidos a partir de BF40 e BF80 não demonstraram patentes sinais de escurecimento, percolação e laminação, apesar disso, um incipiente indício de aderência ao final do processo de compressão foi observado. Outrossim, apresentaram uniformidade de peso médio.
- Os briquetes de BF40 e de BF80 foram caracterizados tecnologicamente e apresentaram resistência à abrasão e ao esmagamento radial sem, contudo, apresentarem longo tempo de desintegração. A porosidade e o volume de recuperação indicaram resultados contraditórios.
- A diferença entre os briquetes de BF40 e BF80 pode ser atribuída, mormente, aos produtos secos por aspensão distintos.
- Os briquetes de BF80 apresentaram comportamento plástico durante a mensuração da resistência ao esmagamento radial, bem como alta sensibilidade deste parâmetro frente à variação do peso médio e da umidade.

- A presença do desintegrante mostrou ter importância na desintegração dos briquetes de BF40.

3.7 REFERÊNCIAS

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

ANDRÈS, C., BRACCONI, P.; POURCELOT, Y. On the difficulty of assessing the specific surface area of magnesium stearate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 218, p. 153-163, 2001.

BARRA, J.; SOMMA, R. Influence of the physicochemical variability of magnesium stearate on its lubricant properties: possible solutions. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, n. 11, p. 1105-1120, 1996.

BOLHUIS, G.K.; CHOWHAN, Z.T. Materials for direct compaction. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap 14, p. 419 – 500.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003. Cap 27, p. 90.

COUTO, A.G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Granulação. **Caderno de Farmácia**, v. 16, n. 1, p. 13-20, 2000.

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

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

DAVIES, P.N.; NEWTON, J.M. Mechanical strength. In: ALDERBORN, G.; CHRISTER, N. (Ed.) **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 7, p. 165-193.

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

FELL, J.T.; NEWTON, J.M. Determination of the tensile strength of tablets by the diametral-compression test. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, n. 5, p. 688-691, 1970.

HERTING, M.G.; KLEINEBUDDE, P. Studies on the reduction of tensile strength of tablets after roll compaction/dry granulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 372-379, 2008.

HOLZSCHUH, M. H. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteracea**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

KLEINEBUDDE, P. Roll compaction / dry granulation: pharmaceutical applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 317-326, 2004.

LANDIN, M.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GOMEZ-AMOZA, J.L.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A.; ROWE, R.C. Effect of batch variations and source of pulp on the properties of microcrystalline cellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 91, n. 2-3, p. 133-141, 1993.

LIONÇO, M.I.; COUTO, A.G.; PETROVICK, P.R. Efeito de desintegrante na recuperação axial de comprimidos. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 13 e FEIRA, 10, Porto Alegre. **Programa e Resumos...** Porto Alegre: UFRGS, 2002. p. 390. Res. 103.

MILLER, R.W. Roller compaction technology. In: PARIKH, D.M. (Ed.) **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**. New York: Marcel Dekker, 1997. Cap. 6, p. 99-150.

MURAKAMI, H.; YONEYAMA, T.; NAKAJIMA, K.; KOBAYASHI, M. Correlation between loose density and compactability of granules prepared by various granulation methods. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 216, n. 1-2, p. 159-164, 2001.

NYSTRÖM, G.; 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, n. 17-18, p. 2143-2196, 1993.

PARONEN, P.; ILKKA, J. Porosity-pressure functions. In: ALDERBORN, G.; CHRISTER, N. (Ed.) **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 7, p. 165-193.

PATEL, S.; KAUSHAL, A.M.; BANSAL, A.K. Compression physics in the formulation development of tablets. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 23, n. 1, p. 1-65, 2006.

PETROVICK, G.F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Tecnologia farmacêutica**. 6 Ed. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2003.

RITSCHER, W.A.; BAUER – BRANDL, A. **Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung and Qualitätssicherung**. 2. Aufl. Aulendorf: ECV, 2002.

RUPPENTHAL, L.R.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R. Avaliação das superfícies de comprimidos com auxílio de programa de análise de imagens. In: Salão de Iniciação Científica, 19, 2007, Porto Alegre. **Programa e Resumos**. Porto Alegre: UFRGS, 2007. p. 617.

SOARES, L.A.L. **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 em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; SCHMIDT, P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extract. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E 358-466, 2005.

SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R. Física da compressão. **Caderno de Farmácia**, v. 15, n. 2, p. 65-79, 1999.

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

SPANIOL, B.; BICA, V.C.; RUPPENTHAL, L.R.; PETROVICK, P.R. Compressional behavior of a mixture of granules containing high load of *Phyllanthus niruri* spray-dried extract and granules of adjuvants: comparison between eccentric and rotary tablet machines. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 1013-1023, 2009.

SUMMERS, M.; AULTON, M. Granulação. In: AULTON, M.E. (Ed.) **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 25, p. 369-383.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 27. rev. ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Easton: Mack, 2004.

VEEN, B.B.; BOLHUIS, G.K.; WU, Y.S.; ZUURMAN, K.; FRIJLINK, H.W. Compaction mechanism and tablet strength of unlubricated and lubricated (silicified)

microcrystalline cellulose. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, n. 1, p. 133-138, 2005.

VELASCO, M.V.; MUÑOZ-RUIZ, A.; MONEDERO, M.C. e CASTELLANOS, M.R. Effect of the addition of three disintegrants on the tableability of calcium-phosphate based materials. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 40, n. 5, p. 344-347, 1994.

VILA JATO, J.L. (Ed.) **Tecnología Farmacêutica**. Madrid: Síntesis, 2001.

WU, J.; HO, H.; SHEU, M. A statistical design to evaluate the influence of manufacturing factors on the material properties and functionalities of microcrystalline cellulose. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, p. 417-425, 2001.

4 CAPÍTULO 3: GRANULAÇÃO POR VIA SECA POR DESAGREGAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS RESULTANTES

4.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

O emprego do processo de granulação tem como objetivo transformar partículas de pós cristalinos ou amorfos em agregados sólidos de resistência e porosidade variadas (COUTO e col., 2000). Dependendo do uso pretendido, os grânulos variam de tamanho entre 0,2 e 4 mm, muito embora, mormente sejam utilizados como produtos intermediários na obtenção de outras formas farmacêuticas de dose unitarizada (SUMMERS e AULTON, 2005).

Apesar da maior demanda de tempo e de recursos devida ao acréscimo de etapas de processamento, a compressão de granulados apresenta uma série de vantagens sobre a compressão direta. A granulação melhora as propriedades reológicas, previne segregação dos constituintes de misturas pulveréas, reduz a higroscopicidade, pode incrementar a densidade, o que, por sua vez, facilita o armazenamento, minimiza o risco de contaminação cruzada e efeitos toxicológicos advindos de dispersão aérea de pós, aumenta a estabilidade de empacotamento e melhora as características de compactação (IVESON, 2001; COUTO e col., 2000; VILA JATO, 2001; SUMMERS e AULTON, 2005). Diante deste aprimoramento nas características tecnológicas auferidas pela granulação, se justifica o emprego desse processo de aglomeração em extratos secos por aspersão de extratos vegetais. A granulação por via úmida quando comparada a via seca, apresenta desvantagens devida a exposição de constituintes sensíveis à umidade e ao calor, o que é o caso, muitas vezes, de extratos secos de origem vegetal.

Após a granulação por via seca, a caracterização dos granulados é essencial visto que permite antever problemas durante as etapas de mistura e compressão, bem como perscrutar sobre as características dos comprimidos finais.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o processo de granulação por via seca por desagregação de briquetes constituídos de complexos farmacêuticos contendo extratos secos por aspersão das sumidades floridas de *Achyrocline satureioides*, oriundos de soluções extrativas de diferentes composições.
- Verificar a influência do processo sobre as características dos granulados obtidos e sua adequabilidade almejando obter, posteriormente, comprimidos.

4.3 REVISÃO DO TEMA

Posterior à produção dos briquetes na granulação por via seca, foco do presente capítulo, realiza-se a desagregação dos mesmos empregando para tal granuladores rotativos, oscilatórios, moinhos ou tamisadores-granuladores (VOIGT, 2005). A seleção das faixas granulométricas permite estreitar a dispersão entre as dimensões dos grânulos e reduzir a variabilidade atribuível a este fator. O rendimento da granulação na faixa de interesse é, naturalmente, dependente das características do briquete, assim como do processo de desagregação eleito para a formação dos granulados.

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

Os poucos estudos sobre granulação por via seca de produtos secos por *spray drying* de extratos vegetais atestam a melhoria das propriedades tecnológicas, de modo geral, em relação ao material pulveréneo original.

Couto (2000) desenvolveu granulado, contendo alto teor de PSA de *Phyllanthus niruri*, por granulação por via seca por desagregação com propriedades tecnológicas favoráveis à compressão. O granulador de rolos sulcados foi empregado na desagregação dos briquetes. A calibração do granulado selecionou a faixa de interesse

de 0,25 a 1 mm, sendo que os finos foram recompactados até que representassem apenas 10 % da mistura total. Os granulados apresentaram estabilidade limitada em ambientes com umidade relativa de 65 % e 99 %.

Soares e col. (2005) produziram granulados por via seca a partir de PSA de *Maytenus ilicifolia*, empregando a compressão em máquina de comprimir alternativa instrumentalizada e em rolos sob três forças diferentes. A desagregação foi realizada em moinho de rolos sulcados e a faixa selecionada foi de 0,25 a 1 mm. Todos os granulados apresentaram resultados tecnológicos satisfatórios, assim como decréscimo no seu potencial de deformação plástica, comparados ao complexo farmacêutico originário, decorrente da dupla compressão. Esta queda foi maior para o granulado obtido sob as mais altas forças compressoriais nos rolos compactadores. Igualmente quanto à comprimibilidade, resposta da resistência mecânica à força compressional, os granulados foram inferiores ao material pulveréneo.

De Souza (2004) produziu granulados de diferentes composições a partir de PSA de *Phyllanthus niruri* por via seca e por via úmida. Tanto a granulação por via seca como a por via úmida foram capazes de originar granulados com boas características tecnológicas. Os granulados por via seca apresentaram comportamento plástico e fragmentativo, enquanto os granulados por via úmida deformaram predominantemente de modo plástico. A produção dos briquetes e a desagregação seguiram condições operacionais similares às empregadas por Couto (2000). O diferencial no processo de desagregação entre De Souza e Couto foi o emprego de granulador oscilatório subsequente ao uso do granulador de rolos sulcados. Tal procedimento pode acelerar o moroso processo de granulação sem aparente prejuízo ao rendimento.

Petrovick (2006) pela primeira vez produziu granulados de PSA40 de *Achyrocline satureioides* por granulação por via seca por desagregação e em leito fluidizado. Devido ao baixo rendimento do leito fluidizado (15 %), este foi preterido em relação à granulação por via seca que, por sua vez, apresentou rendimento de 60 %. A redução dos compactos foi realizada em granulador de rolos sulcados, sendo a faixa selecionada de 0,250 a 1,000 mm. Os finos produzidos não foram compactados.

Diversos estudos demonstram que as múltiplas compactações acarretam um decréscimo no comportamento compressional de vários complexos farmacêuticos, sendo prudente, quando possível, evitar a recompressão (KOCHHAR e col., 1995; BULTMANN, 2002; SUN e HIMMELSPACH, 2006; HERTING e KLEINEBUDDE, 2008).

Os grânulos apresentaram formato irregular, coloração marrom (princípio de escurecimento), boa estabilidade de empacotamento e baixo ângulo de repouso. A granulação e a adição de adjuvantes ao PSA40, no entanto, conferiu, ao mesmo, pequena proteção frente às umidades ambientais relativas de 65 % e 99 % (PETROVICK, 2006).

Spaniol (2007) produziu briquetes empregando as mesmas condições usadas por De Souza (2004). Após a compactação, os briquetes de PSA de *Phyllanthus niruri* foram submetidos ao granulador de rolos sulcados com velocidade controlada e a seguir tamisados entre as faixas granulométricas de 0,250 a 0,850 mm. As frações maiores que 1,000 mm foram submetidas à cominuição em granulador oscilatório de malha de 1,000 mm por duas vezes a fim de resultar em granulado inferior a 0,850 mm. Os finos não foram recompactados. A diminuição da faixa granulométrica empregada por Spaniol possibilitou uma maior homogeneidade na característica dos granulados visto que a maioria dos atributos físicos do granulado é dependente de sua dimensão. Assim como nos trabalhos precedentes, a granulação resultou em produtos com características tecnológicas adequadas para o desenvolvimento de comprimidos.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

4.4.1 Materiais

Para a obtenção dos granulados se empregaram os briquetes de PSA40 e PSA80 previamente elaborados conforme item 3.4.3.1. Os solventes e reagentes utilizados possuíam qualidade pró-análise, quando não diferentemente citada: silicone líquido (350 CTKS, fornecido por Delaware, Porto Alegre/Brasil), etanol (96 % v/v, Nuclear, São Paulo/Brasil), metanol (grau HPLC, J. T. Baker, Cidade do México/México), ácido ortofosfórico (pró-análise, Merck, Darmstadt/Alemanha), acetonitrila (grau

HPLC, J.T. Baker, Cidade do México/México), água ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA). Os padrões flavonoídicos utilizados foram luteolina (97 % pureza, Alfa Aesar, Ward Hill/EUA, lote 10054013) e quercetina (Sigma Aldrich, St. Louis/EUA, lote 90K1746).

4.4.2 Equipamentos¹, acessórios e correlatos

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

Analisador de área superficial específica QuantaChrome Autosorb-1 (LACER/UFRGS)¹;

Analisador de umidade por infra-vermelho Gehaka IV-2000;

Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu, equipado com bomba LC-10AD, injetor automático SIL-10A e detector UV/Vis SPD-20 AV, controlado pelo programa CLASS LC-10;

Aparelho de Karl Fischer DL37 Mettler Toledo (LAPPS/UFRGS)¹;

Banho de ultra-som Ultra Cleaner 1400 A, Unique;

Coluna cromatográfica Phenomenex de aço inoxidável Synergi Polar-RP 4 µm, 150 x 4,6 mm d.i.;

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)¹;

Difratrômetro de laser Cilas 1180 (LACER/UFRGS)¹;

Forno para colunas de CLAE Hot Column, Cromacon Ciola (CDTF/UFRGS)¹;

Friabilômetro tipo Roche J. Engelsmann, de acordo com Farmacopéia (1988);

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

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

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

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

¹ O autor agradece às Unidades citadas pela gentil disponibilização dos equipamentos.

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

Metalizador Jeol Jee 4B, JVG-IN (CEM/UFRGS)¹;

Microscópio eletrônico de varredura Jeol – JSM 6060 (CEM/UFRGS)¹;

Microscópio óptico Jena;

Pré-coluna cromatográfica Phenomenex Gemini C18, 4 x 3 mm d.i.;

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

Software estatístico Minitab[®] versão 14;

Software para modelos matemáticos CurveExpert versão 1.37;

Volúmetro de compactação J. Engelsmann (EUROPEAN, 1997).

4.4.3 Métodos

4.4.3.1 Granulação

A granulação dos compactos de PSA40 e PSA80 foi realizada em granulador de rolos sulcados. A seguir foram tamisados em malha de 0,850 mm, sendo a porção retida cominuída em granulador oscilatório com malha de 0,850 mm até a passagem de todo o produto pela malha. A seleção foi realizada com auxílio de tamises de abertura de malha 0,250; 0,425; 0,500; 0,600; 0,710 e 0,850 mm em aparelho de tamisação vibratório durante 15 min. Foi escolhida a faixa granulométrica de 0,25 a 0,85 mm. Para o cálculo do rendimento foi considerado o percentual de granulados dentro da faixa estipulada de 0,850 a 0,250 mm, em relação à massa inicial de briquetes. Os finos produzidos foram recompactados, mas avaliados e utilizados em estudo a parte.

4.4.3.2 Caracterização dos granulados

4.4.3.2.1 Avaliação da perda por dessecação

Realizado conforme item 2.4.3.1.

4.4.3.2.2 Determinação titulométrica de água (FARMACOPÉIA, 1988)

Após a cominuição dos granulados em gral com pistilo, a água foi quantificada pela técnica de Karl Fischer, conforme 2.4.3.2.

4.4.3.2.3 Análise granulométrica

4.4.3.2.3.a) Determinação granulométrica por tamisação (FARMACOPÉIA, 1988)

Cerca de 50 g do granulado foram submetidos à passagem por tamises com abertura de malha de 0,250; 0,425; 0,500; 0,600; 0,710; 0,850 mm. A análise foi realizada com três repetições.

4.4.3.2.3.b) Determinação granulométrica por microscopia óptica (LANTZ, 1989)

A microscopia óptica com análise do diâmetro de Ferret foi efetuada com objetiva de aumento de 3,2 vezes, sendo que cada unidade do nônio da ocular correspondeu a 44 μm , com contagem de 1385 e 1677 partículas, respectivamente para o GRPSA80 e GRPSA40. A análise dos resultados foi realizada utilizando o aplicativo computacional CurveExpert para obter o modelo que melhor descrevesse os dados. O modelo de Richards foi eleito e sua equação 4.1 está apresentada abaixo:

$$Y = \frac{\alpha}{[1 + \exp(\beta - \gamma \cdot X)]^{1/\delta}} \text{ (eq. 4.1)}$$

onde, Y é a variável dependente que representa a frequência relativa acumulada, X é a variável independente que representa o diâmetro médio particular, o parâmetro α é o valor máximo esperado para a resposta (assíntota), o parâmetro β está relacionado com o intercepto, o parâmetro γ está relacionado com a taxa média de crescimento da curva e o parâmetro δ aumenta a flexibilidade do modelo (REGAZZI, 2003).

A seguir empregou-se a equação 4.2 que possibilita a linearização do modelo de Richards. Tal equação foi elaborada pelo Prof. Dr. George González Ortega, deste Programa de Pós-graduação, e permite comparar estatisticamente os parâmetros β e γ ,

respectivamente, intercepto e inclinação por meio da comparação estatística das retas (CHARNET e col., 1999).

$$\ln\left(\frac{\alpha^\delta - Y^\delta}{Y^\delta}\right) = \beta - \gamma \cdot X \text{ (eq. 4.2)}$$

A partir do modelo de Richards se obteve a mediana da distribuição granulométrica. Os diâmetros de 16 % e de 84 % das partículas foram também obtidos para adquirir o desvio padrão da distribuição (WELLS, 1988).

Igualmente, foram avaliadas a média aritmética, desvio padrão, curtose e assimetria da distribuição granulométrica dos dois extratos secos conforme item 2.4.3.4. a).

4.4.3.2.3.c) Determinação da granulometria por difração a laser

Realizado conforme item 2.4.3.4.b. Utilizou-se de óleo de silicone como dispersante das amostras. O experimento foi realizado em triplicata.

4.4.3.2.4. A avaliação das densidades bruta e compactada, fator de Hausner (FH), índice de compressibilidade (IC) e índice de densificação (ID) (HAUSNER, 1967; CARR, 1965; VOIGT, 2005)

As densidades bruta e compactada foram determinadas utilizando-se 2,0 g de granulado em proveta de 10 ml. Realizaram-se três repetições para cada amostra. Os demais parâmetros foram calculados conforme os itens 2.4.3.6 e 2.4.3.7

4.4.3.2.5. Determinação do fluxo discreto

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

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

Cerca de 14 g de granulados calibrados (aproximadamente 30 ml) foram colocados em proveta de 100 ml. Após fechado e acoplado ao friabilômetro, o conjunto foi submetido à rotação de 25 rpm por 15 minutos, e, ao final, a amostra foi submetida à separação em tamis de abertura de 0,250 mm. O percentual de friabilidade foi calculado a partir da massa de partículas inferiores a 0,250 mm, depositada no coletor, em relação à massa inicial.

4.4.3.2.7. Análise do granulado por microscopia eletrônica de varredura

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

4.4.3.2.8. Cálculo da densidade real dos granulados

A densidade real dos granulados foi obtida utilizando os valores calculados para os seus respectivos briquetes de origem conforme item 3.4.3.2.4.

4.4.3.2.9. Determinação da área superficial específica (B.E.T.)

As amostras foram submetidas à secagem em estufa sob temperatura de 100 °C por 5 h. As amostras secas tiveram sua área superficial específica determinada por adsorção de nitrogênio, utilizando a técnica de B.E.T. Utilizou-se a análise por *Multipoint* e *Single Point*. A regressão para o *Multipoint* possuiu coeficiente de correlação de 0,99995 e 0,99994, respectivamente, para o GRPSA80 e GRPSA40.

4.4.3.2.10. Avaliação do teor de quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina por cromatografia líquida de alta eficiência nos granulados

Cerca de 50 mg, exatamente anotados, de granulados, previamente triturados com pistilo em gral, foram quantificados após dispersão dos mesmos em cerca de 20 ml de solução hidroalcoólica a 60 % e 85 %, respectivamente, para o GRPSA40 e GRPSA80 com auxílio de sonicação. Após, o volume foi analiticamente completado a

25,0 ml com o respectivo solvente e as dispersões foram homogeneizadas. Para análise cromatográfica, 5,0 ml da solução foram diluídos para balão volumétrico de 20 ml com diluente metanol:ácido fosfórico a 0,1 % (1:1, v/v). A seguir a solução foi filtrada com membrana de 0,45 µm HVHP. O método de CLAE desenvolvido por Bica e col. (2009)¹ foi empregado na análise. Os resultados das três determinações foram expressos em recuperação (%) baseados nas concentrações apresentadas pelos respectivos PSA e na proporção ponderal do mesmo nas formulações. As injeções de 20 µl das amostras foram feitas em triplicata.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A granulação por via seca foi a opção de eleição devido à sensibilidade ao calor e à umidade dos PSA (HOLZSCHUH, 2008), bem como à solubilidade dos PSA40 e PSA80 em água e em outros solventes orgânicos, tendo em acréscimo que esses últimos possuem maior periculosidade tanto no processo quanto na garantia da sua total retirada para inocuidade no uso. Desta forma, diversos trabalhos foram desenvolvidos fazendo uso da granulação por via seca por desagregação em formulações com alto teor de extratos secos vegetais (SOARES e col., 2005; COUTO, 2000; DE SOUZA, 2004; PETROVICK, 2006; SPANIOL, 2007).

O diferencial do procedimento de granulação realizado no presente trabalho reside no emprego do moinho oscilatório com malha de abertura de 0,850 mm. Objetivou-se obter um maior rendimento de granulados visto que a faixa de interesse está compreendida entre 0,250 mm e 0,850 mm.

Inicialmente, procedeu-se a cominuição grosseira dos briquetes com moinho de rolos sulcados, cujo parco rendimento na faixa de interesse para o GRPSA40 (9,18 %) e GRPSA80 (9,08 %) demonstra a necessidade do granulador oscilatório.

O rendimento total da granulação, após a calibração dos granulados na faixa de interesse, foi de 61,1 % para o GRPSA40 e de 66,9 % para o GRPSA80. A diferença

¹ BICA, V.C.; PIRAN, S.M.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. 2009. Manuscrito a ser submetido para publicação contido ao final do capítulo 8 item 9.8.

entre os granulados pode advir da maior resistência à tensão dos briquetes de CF80, bem como do anômalo comportamento apresentado durante a mensuração da resistência ao esmagamento radial, resultando em menor produção de finos. Não obstante, os briquetes de CF80 apresentaram resistência à abrasão equiparável à dos briquetes de CF40. Igualmente semelhante, foi o rendimento apresentado no trabalho de Petrovick (2006), muito embora, o procedimento de granulação (usou apenas de granulador de rolos sulcados) e a faixa de interesse (mais ampla) sejam diferentes.

Após a granulação via seca por desagregação, os granulados foram estocados em local com umidade e temperatura controlada.

Realizou-se a perda por dessecação (PPD) cerca de 1 semana após a granulação e ao final de 1 ano e 3 meses para acompanhamento do comportamento sortivo dos granulados. As duas análises foram estatisticamente semelhantes, exprimindo a estabilidade dos mesmos durante o armazenamento (tabela 4.5.1).

A determinação da umidade pela técnica de Karl Fischer dos granulados foi efetuada para avaliação da real quantia de água presente nestes produtos excluindo a possível interferência de outras substâncias voláteis (ex. óleos voláteis do PSA) e incluindo na análise a possível presença de água de hidratação, principalmente, nos adjuvantes. A análise estatística demonstrou que ambas as técnicas, para esses granulados, realizadas no mesmo período, são intercambiáveis (tabela 4.5.1).

A avaliação da umidade residual é de suma importância na caracterização visto que a estabilidade química dos componentes (ex. hidrólise) e microbiológica é hidrodépendente. Os resultados atestam umidade inferior aos limites máximos de 6 - 7 % para produtos sólidos com acondicionamento não hermético (LIST e SCHMIDT, 1989).

O bom acondicionamento do PSA40, assim como o controle da umidade e da temperatura proporcionaram similaridade entre a umidade dos GRPSA40 produzidos no presente trabalho e por Petrovick, em 2006, (5,32 %) não obstante a diferença nas formulações.

Tabela 4.5.1 Resultados do cálculo teórico e da determinação de água residual nos granulados por perda por dessecação e pelo método de Karl Fischer (%; m/m)

Umidade residual	Granulado	GRPSA 40	GRPSA 80
Cálculo teórico (%; m/m)		5,56	3,90
PPD (%; m/m)			
Inicial – 1 semana*		5,32 ^{ac} ± 0,08 (1,61)	3,43 ^b ± 0,07 (2,23)
1 ano e 3 meses*		5,00 ^{ac} ± 0,1 (2,00)	3,70 ^b ± 0,17 (4,68)
Karl Fischer (%; m/m)			
1 ano e 3 meses*		4,82 ^a ± 0,24 (5,04)	3,69 ^b ± 0,18 (5,04)

PPD = perda por dessecação; Médias seguidas pela mesma letra não diferem pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$)

*Tempo de armazenamento em dessecador com gel de sílica, após o recebimento dos PSA.

Para se avaliar a influência do processo de mistura, briquetagem, granulação e armazenamento sobre a umidade dos granulados se comparou com a PPD presente teoricamente nos complexos farmacêuticos (CF) originais a partir dos valores obtidos para os adjuvantes e os respectivos PSA antes de qualquer processamento. Por meio da avaliação da tabela 4.5.1, infere-se que em parte as diferenças entre o teórico e o obtido se devam atribuir à possível heterogeneidade da mistura dos CF, mas, sobretudo, ao processo de dessorção de umidade durante o armazenamento visto que foram estocados em dessecadores com gel de sílica.

O tamanho da partícula, outro parâmetro de fundamental importância, cuja influência se faz presente em diversas outras características do granulado, tal como reologia, densidade bruta e compactada, área superficial, assim como a sensibilidade à umidade e a outros agentes externos, foi realizada por três técnicas: microscopia óptica com aplicação da análise do diâmetro de Ferret (MO), análise granulométrica com difração a laser (DL) e análise por tamisação (AT).

As três técnicas possuem reverses. A microscopia é, normalmente, uma técnica morosa que subestima os valores de tamanho médio visto que analisa a frequência das partículas dando equivalência na contagem para grandes partículas quanto pequenas (comumente mais numerosas), as quais, por vezes, representam apenas uma pequena fração da proporção ponderal da amostra. Esse aspecto é contraposto em parte pelo

fato das partículas estarem na sua conformação com maior estabilidade gravitacional, posicionando-se de acordo com suas maiores dimensões (STANIFORTH, 2005).

A amostragem é um dos problemas mais sérios desta técnica, bem como da DL, principalmente, quando se tratam de amostras heterogêneas, necessitando assim alto número de contagens ou/e repetições. No entanto, a microscopia e a difração a laser possibilitam discriminar em inúmeras faixas estreitas o tamanho das partículas, desta forma detalhando a distribuição granulométrica. A DL, a despeito da semelhança com a MO, apresenta maior amplitude granulométrica (nas faixas inferiores), rapidez na obtenção dos resultados (automação), maior independência da conformação da partícula, necessidade de dispersão do grânulo (em meio líquido ou gasoso) e de garantir a ausência de aglomerados e interações entre as amostras e o meio dispersante (STANIFORTH, 2005). Estes dois últimos aspectos, normalmente, podem ser auxiliados pela microscopia óptica que possibilita também avaliação da morfologia bidimensional da partícula.

O método mais simples para medir as características de distribuição quantitativa de materiais particulados é a tamisação (PARROT, 1970). Contrapondo MO e DL, este geralmente superestima o tamanho de partícula visto que considera o peso como unidade de medida e não a frequência de partículas, sendo assim, partículas com maior diâmetro (maior massa) são mais valoradas, principalmente, quando se tratam de partículas perfeitamente esféricas. Por ser uma técnica não destrutiva, possibilita a seleção granulométrica de grande quantia de material, sendo neste quesito inequívoco as outras duas técnicas. Outrossim, possui intervalos maiores onde se perde o pormenor da dispersão granulométrica (VILA JATO, 2001). Deste modo, são técnicas complementares e que auxiliam na caracterização mais completa do diâmetro de partícula dos GRPSA.

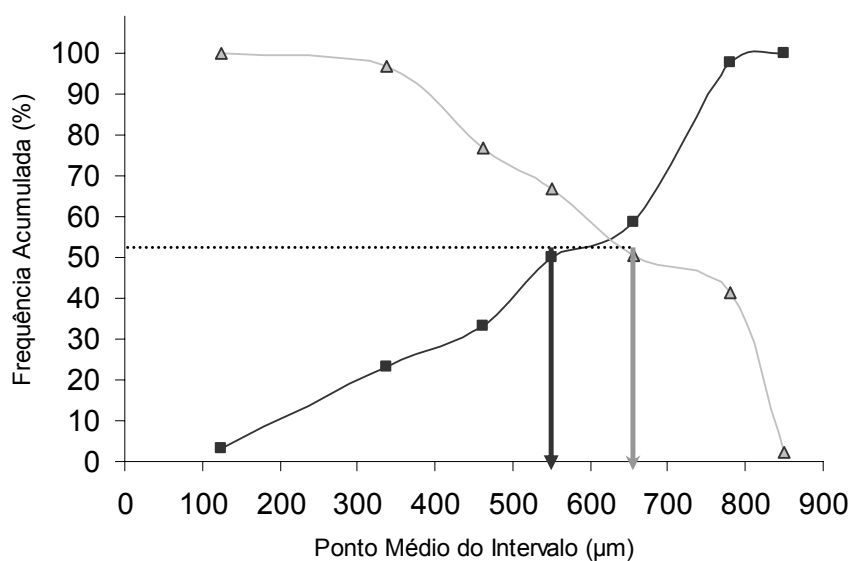


Figura 4.5.1. Perfil da frequência acumulada (■) e da frequência acumulada inversa (▲) do GRPSA40 obtidos por tamisação

A análise da distribuição granulométrica por meio da tamisação dos dois granulados evidencia uma distribuição sem aderência à normalidade com clara predominância da moda de intervalo de [0,710-0,850], tal fato torna mais complexa a determinação do diâmetro médio. Observa-se na representação gráfica da frequência acumulada (FA) e da frequência acumulada inversa (FAI) (figura 4.5.1), uma distinção não clássica, visto que, conceitualmente, a intersecção entre as duas curvas deveria apresentar-se no ponto intermediário dos valores (50 %). A tamisação por se constituir de amplos intervalos torna a diferença entre FA e FAI substancial.

Nota-se a similaridade dos granulados no que tange à distribuição granulométrica, havendo uma pequena superioridade de dimensões no diâmetro das partículas do GRPSA80 (figura 4.5.2).

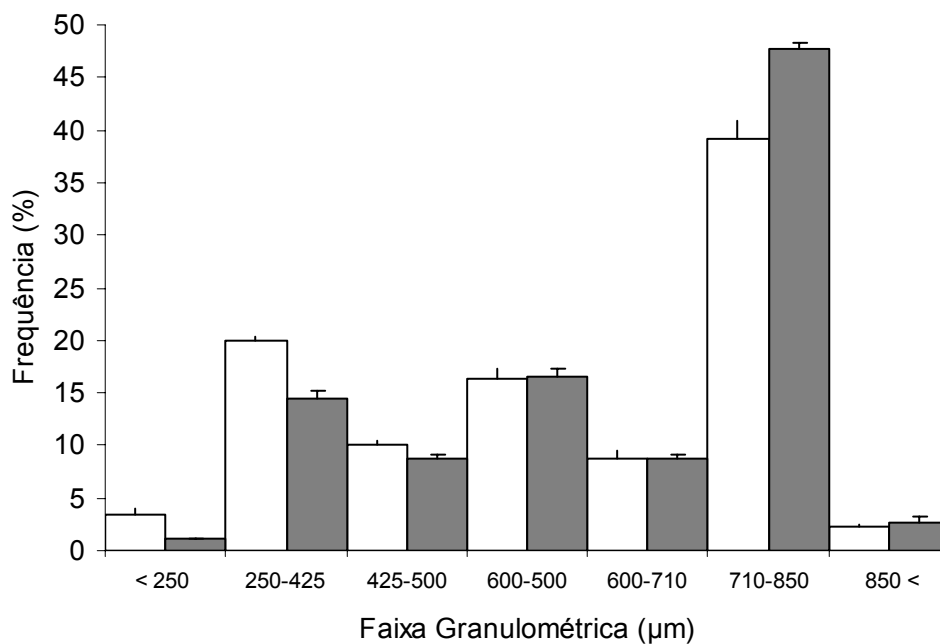


Figura 4.5.2. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA40 (□) e GRPSA80 (■) por tamisação.

Para obtenção da mediana da distribuição da frequência acumulada e acumulada inversa por meio de ajuste de equações lineares dos dois granulados, utilizou-se de transformações das mesmas, respectivamente, por meio da raiz quadrada e do logaritmo natural. Tal fato possibilitou a obtenção do percentil 50 % com maior exatidão. Igualmente, permitiu a aquisição dos dados de erro padrão e coeficiente de determinação do modelo. A inexistência destes dados na análise gráfica, corriqueiramente utilizada, não impede a existência de desvios do modelo que ficam implícitos, por tanto negligenciados.

Outra possibilidade que pode ser aventada, a despeito do coeficiente de determinação entre 0,98 e 0,99; é a comparação de retas que torna possível a comparação estatística utilizando a totalidade dos dados (CHARNET e col., 1999).

Analisou-se a repetibilidade da tamisação se obtendo equações lineares por meio das transformações descritas para frequência acumulada e acumulada inversa das três repetições. A comparação das retas entre as repetições (tabela 4.5.2) demonstrou que não houve diferença entre elas quanto ao intercepto e à inclinação, apontando para adequada amostragem e análise. Igual resultado foi obtido para as retas obtidas pelos

GRPSA40 e GRPSA80 corroborando com a observação qualitativa do histograma. Como já era previsto, a comparação de retas entre as frequências acumulada e acumulada inversa pode ser realizada, no entanto, apresentou resultados distintos dada as diferentes transformações utilizadas.

As inclinações e interceptos das retas excluem o zero nos limite de confiança superior e inferior. Tal fato evidencia a adequação das inclinações e a presença de finos no coletor. Estas análises, que levam em consideração o conjunto de dados provenientes da tamisação, atestam a obtenção de granulados com igual dispersão granulométrica.

Tabela 4.5.2. Equações da reta obtida dos dados de tamisação

Parâmetro / Granulado	Fonte dos dados	Equação da reta	r ²	F calculado
GRPSA40	FA	2,065 ^a + 000319x ^b	0,9861	212,56
	FAI	12,42 ^c - 0,00784x ^d	0,9913	340,19
GRPSA80	FA	1,368 ^a + 0,00406x ^b	0,9835	179,16
	FAI	12,23 ^c - 0,00667x ^d	0,9891	271,56

FA = frequência acumulada; FAI = frequência acumulada inversa. Intercepto e inclinação da equação reta seguidas pela mesma letra, não diferem entre si pelo Teste *t* de Student ($\alpha/2 = 0,05$) presumindo variâncias diferentes. ANOVA *one way* ($\alpha = 0,05$). Fcrit = 10,13. r² = coeficiente de determinação.

A análise da tamisação resultou em dados imprecisos devido à falta de normalidade dos dados, resultando em duas medianas para cada granulado como demonstrado na tabela 4.5.3. A moda, embora consista numa ampla faixa, é mais informativa que a mediana.

Tabela 4.5.3. Análise do diâmetro médio obtido por retas de frequência

Granulado	Frequência acumulada Mediana ± s (dpr %)	Frequência acumulada inversa Mediana ± s (dpr %)
GRPSA40	578,9 ^a ± 5,1 (0,89)	682,8 ^b ± 9,9 (1,45)
GRPSA80	627,1 ^c ± 4,9 (0,79)	774,7 ^d ± 13,1 (1,68)

ANOVA *one way* ($\alpha = 0,05$). Mediana seguidas pela mesma letra, não diferem pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$)

Independente da ausência de uma adequada medida da tendência central da granulometria por AT, este se constitui de suma importância na obtenção do percentual dos intervalos que serão base para composição do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ) para ambos os GRPSA.

Os resultados das análises por MO e DL (figuras 4.5.3 e 4.5.4) vêm contribuir para o melhor discernimento de tal parâmetro cuja importância está entrelaçada com a área superficial, a qual, por sua vez, é fator capital em diversas propriedades do granulado.

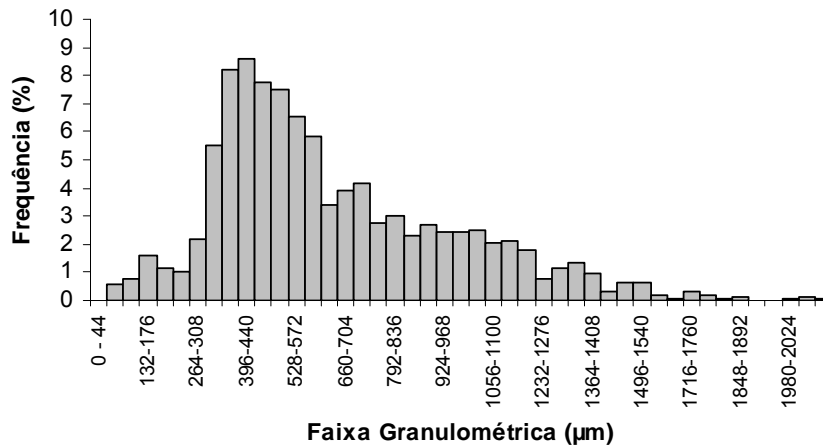


Figura 4.5.3. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA80 por microscopia óptica (diâmetro de Ferret)

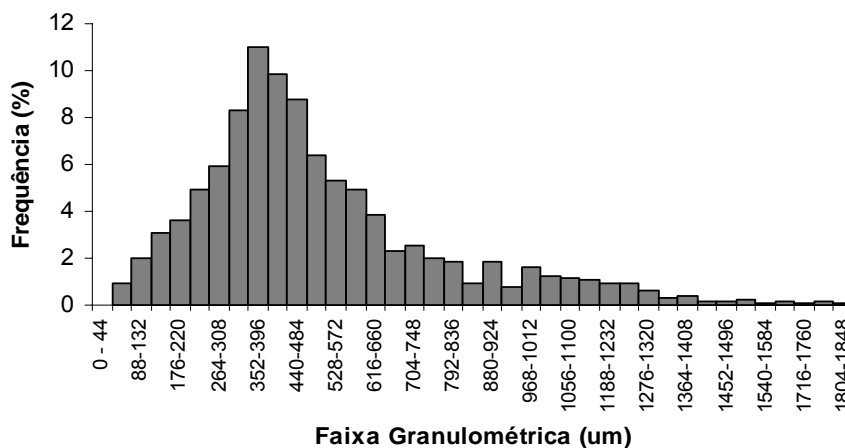


Figura 4.5.4. Histograma de distribuição granulométrica do GRPSA40 por microscopia óptica (diâmetro de Ferret)

Com auxílio do programa de ajuste de modelo matemáticos, CurveExpert, foi possível encontrar o melhor modelo para frequência acumulada (FA). A FAI não foi empregada devido à maior aproximação de uma distribuição gaussiana e ao maior número de intervalos avaliados, diminuindo, substancialmente, a diferença entre as

medias de FA e FAI. A moda dos intervalos para GRPSA40 está em [352-396] (372 μm) enquanto para o GRPSA80 está em [396-440] (418 μm).

O modelo de Richard foi o escolhido por apresentar melhor coeficiente de determinação, menor erro padrão e homocedasticidade. Os modelos de Richards, MMF e Weibull fazem parte dos modelos tipo sigmoidal que possuem larga aplicação na ecologia, agronomia, veterinária, engenharia e economia. Essas curvas começam num ponto fixo e crescem monotonicamente até um ponto de inflexão, a partir daí a taxa de incremento começa a desacelerar até a curva se aproximar de um valor final assintoticamente (REGAZZI, 2003). Esses modelos, notadamente o Weibull, vêm sendo empregados em estudos biofarmacêuticos e farmacocinéticos, muito embora, possam ser estendidos para outras análises farmacêuticas que sejam bem descritas por curvas na forma de S.

O modelo de Richards é tetraparamétrico e estes, por sua vez, estão apresentados na tabela 4.5.4. O coeficiente de determinação demonstra que o modelo descreve bem os dados experimentais para o GRPSA40 e GRPSA80 com baixo erro padrão.

O parâmetro α , que descreve a assíntota, mostra proximidade com o valor percentual de 100 %, como era previsto. Os parâmetros β , relacionado com o intercepto, e o γ foram avaliados por posterior linearização. Dentre os parâmetros cabe destacar o γ , que representa a taxa média de crescimento na FA, é um bom descritor da dispersão granulométrica, sendo o maior motivo para linearização. O parâmetro δ , que aumenta a flexibilidade do modelo, pode dar indicativo de assimetria da distribuição (REGAZZI, 2003; GIRALDO e col., 2002). Valores unitários para δ indicam simetria o que não é o caso visto que há um aparente desvio para esquerda observado na figura 4.5.4, corroborado pelos dados apresentados na tabela 4.5.4.

O modelo de Richard, a exemplo do modelo de MMF para o produto seco, foi linearizado por transformações matemáticas (tabela 4.5.5). Homocedasticidade, ausência de *outlier*, aderência à normalidade, ANOVA significativa ($\alpha = 0,05$) e exclusão do zero da inclinação nos limites de confiança foram também avaliados. Os

valores dos parâmetros β e γ obtidos diretamente do *software* CurveExpert dos granulados estão incluídos dentro do intervalo de confiança presente na equação linearizada confirmando a adequação da mesma.

Tabela 4.5.4. Parâmetros do Modelo de Richards.

Parâmetros do Modelo	GRPSA40	GRPSA80
r^2	0,9969	0,9964
Erro padrão	1,90	2,16
Parâmetro α	98,36	99,56
Parâmetro β	-1,0707	-1,2687
Parâmetro γ	0,00529	0,00399
Parâmetro δ	0,05003	0,04117

r^2 = coeficiente de determinação.

Tabela 4.5.5. Equações da reta obtida dos dados transformados da microscopia óptica pelo modelo de Richards

Granulado	Equação da reta $F(Y) = \beta - \gamma X$	r^2	Erro Padrão
GRPSA40	$-1,1588^a + 0,00497^b X$	0,9900	0,1332
GRPSA80	$-1,1902^a + 0,00403^b X$	0,9931	0,1367

Médias seguidas pela mesma letra, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha/2 = 0,05$) presumindo variâncias diferentes (CHARNET e col., 1999). r^2 = coeficiente de determinação.

Da mesma forma que as equações da reta obtidas na tamisação, não houve diferença estatística entre a inclinação (parâmetro γ) e o intercepto (parâmetro β) do GRPSA40 e GRPSA80 podendo ser considerado como uma única reta, ou seja, ambas possuem semelhante dispersão granulométrica, bem como igual intercepto. Os interceptos dos GRPSA excluem o zero no limite de confiança, apresentando erro sistemático advindo do desvio em relação aos dados experimentais próprios do modelo empregado. A validade da linearização consiste na comparação estatística.

Tabela 4.5.6. Análise do diâmetro médio por microscopia óptica e por difração de raio laser

Parâmetro do método	Granulados	
	GRPSA40	GRPSA80
Microscopia óptica		
Mediana (Richard)	434,29	571,57
desvio da distribuição (μm)	1,64	1,62
Média Aritmética (μm)	511,64	651,63
Curtose	- 2,57	0,58
Assimetria	1,23	0,92
Difração a laser		
Média (μm)	954,00	920,57
Mediana (μm)	910,07	871,46
Percentil 10% (μm)	576,36	541,13
Percentil 90% (μm)	1390,52	1349,94

Ao contrário da tamisação, cujo limitado número de intervalos bem como a imprecisão dos pontos extremos limita a utilização de média aritmética (método matemático), a microscopia óptica permite a realização desta análise. Os desvios padrões apresentados na tabela 4.5.6 para a mediana, referem-se à razão entre o percentil 84 % e a mediana. Esses valores demonstram que a distribuição possui um valor intermediário de curtose tendendo para uma curtose negativa pelos dados dos percentis (WELLS, 1988).

A média aritmética demonstrou valores superiores aos encontrados para a mediana e para o ponto médio da moda para os dois granulados. O elevado coeficiente de variação (acima de 50 %) da média aritmética foi proporcionado pelo elevado número de partículas grandes, o que compromete o cálculo do desvio padrão. A comparação estatística não foi possível devido à elevada variância constatada no método matemático, o que tornaria as médias estatisticamente semelhantes, bem como à distinção entre o cálculo para o desvio padrão dos dois métodos.

O cálculo de curtose com os valores do diâmetro de Ferret permite observar a natureza mesocúrtica da distribuição do GRPSA80 e platicúrtica para o GRPSA40. Característico de processos de desagregação e/ou moagem, os granulados apresentaram assimetria positiva nas suas distribuições (VILA JATO, 2001; STANIFORTH, 2005).

Outra determinação para verificação da distribuição granulométrica utilizada foi a DL. A distribuição dos granulados, como era esperada, foi unimodal e claramente gaussiana. Os valores obtidos nessa determinação para a medida da tendência central da distribuição foram bem mais elevados que os obtidos para as técnicas antecedentes (tabela 4.5.6). A possibilidade de formação de agregados pode ser descartada devido à sonicação submetida inicialmente e ao elevado tamanho particular que evita uma efetiva coesão.

A pequena amostragem e a utilização do analisador CILAS próximo do limite da sua faixa granulométrica de trabalho (2500 μm) pode também ter influenciado no resultado obtido, devido à possível dispersão lateral do laser. Não menos importante é o fato dos granulados não serem partículas exatamente esféricas como é o pressuposto do equipamento. Apesar da discrepância, os dados obtidos pela técnica corroboram com os resultados precedentes em relação à semelhança do GRPSA40 e GRPSA80 quanto à distribuição granulométrica.

O cálculo da taxa de crescimento atingida pela granulação, normalmente empregado apenas para granulação via úmida por agregação, resulta em aumento de 2918,53 % para o GRPSA40 e 4204,02% para o GRPSA80 quando comparados aos produtos secos originais, pela média aritmética do diâmetro de Ferret (HEMATI e col., 2003; PETROVICK, 2006).

A análise do tamanho de partícula continua sendo um dos mais importantes parâmetros para caracterização de granulados cuja complexidade reside na pluralidade de métodos e análises de dados possíveis, da mesma forma que na variabilidade de morfologia das partículas analisadas.

A avaliação dos granulados quanto a sua área superficial foi realizada por B.E.T. A área superficial está envolvida nas diversas características tecnológicas já avaliadas. Utilizaram-se na análise os dois métodos: *Multipoint* (obtenção de uma reta) e *Single Point* (um único ponto). O GRPSA40 e o GRPSA80 apresentaram, respectivamente, área superficial específica de 8,96 m^2/g e 9,44 m^2/g para o método *Single Point*; e de 10,08 m^2/g e de 10,84 m^2/g para o método *Multipoint*. Apesar da

distribuição granulométrica entre os granulados ser bem próxima, atestada pelas três técnicas anteriormente descritas, a maior área superficial específica do GRPSA80 pode advir da sua menor densidade (tabela 4.5.7), visto que a massa do mesmo é levada em questão para o cálculo da área superficial específica.

Utilizando-se os dados provenientes da área superficial específica dos adjuvantes e do PSA presentes nos granulados juntamente com as suas proporções ponderais foi possível calcular o valor teórico de área superficial específica e comparar com a obtida pelo método *Multipoint* (mais robusto) para os granulados. Os valores teóricos apresentados foram de 10,00 m²/g e 10,89 m²/g, respectivamente, para o GRPSA40 e GRPSA80, e apontam uma grande semelhança com os resultados obtidos diretamente dos granulados.

Os materiais majoritários do granulado apresentam, predominantemente, deformação plástica, logo já era esperado que mantivessem ou diminuíssem a área superficial específica. No entanto, a literatura demonstra uma relação parabólica entre a pressão de compressão e a área superficial para diversos materiais mensurados por adsorção de gás, sendo que a posição do máximo da parábola é substância-dependente (ARMSTRONG, 1996). Logo mesmo substâncias eminentemente plásticas podem possuir um percentual de fragmentação e aumento da área.

Desta monta, é possível que aconteça um processo dinâmico no qual ocorre fragmentação que é compensada pela aproximação de superfícies inferiores a 2 nm ocasionada pela deformação plástica. A diferença entre o valor do complexo farmacêutico e o do granulado pode ser atribuída, além do erro analítico, a esse balanço entre deformação plástica e a fragmentação (WESTERMARCK e col., 1998).

Outra possibilidade é que a compressão durante a produção dos briquetes não tenha resultado em fragmentação ou suficiente aproximação das partículas. A técnica de adsorção considera que superfícies separadas por menos de 2 nm estão em contato devido à incapacidade estérica da molécula de nitrogênio penetrar e se adsorver.

O fator C, constante da equação B.E.T., apresentou valores de 18,87 e 15,52; respectivamente, para GRPSA40 e GRPSA80. O baixo valor da constante aponta para forte interação entre adsorbato - adsorbato (inferior a 20) que é característica de materiais orgânicos (METZ, 1997). Deste modo, o intercepto da curva realizada no *Multipoint* não pode ser negligenciada, sendo este mais adequado para a inferência da área superficial específica (NEWMAN, 1995).

Tabela 4.5.7. Resultados da análise densitométrica dos dois granulados

Parâmetro	Granulado	GRPSA 40	GRPSA 80
		Média ± s (dpr %)	
Densidade bruta (g/ml)		0,488 ^a ± 0,003 (0,75)	0,423 ^b ± 0,016 (3,89)
Densidade compactada (g/ml)		0,502 ^a ± 0,007 (1,34)	0,440 ^b ± 0,017 (3,82)
Fator de Hausner		1,029 ^a ± 0,009 (0,89)	1,040 ^a ± 0,001 (0,15)
Índice de compressibilidade (%)		2,826 ^a ± 0,860 (30,4)	3,894 ^a ± 0,149 (3,83)
Índice de densificação (ml)		1,648 ^a ± 0,610 (37,0)	1,583 ^a ± 0,510 (32,2)
Densidade real (g/cm ³)		1,576	1,513

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha = 0,05$) presumindo variâncias equivalentes ou diferentes dependendo do resultado do teste F ($\alpha = 0,05$)

As densidades bruta e compactada diferem entre os granulados e estão relacionadas com a já avaliada densidade aparente, superior no briquete de BF40, bem como a maior densidade real do BF40. Os índices derivados das densidades dos granulados não diferem estatisticamente entre si e mostram uma considerável melhora tecnológica quando comparados aos produtos secos originais. Tal fato pode ser atribuído ao acréscimo de adjuvantes no complexo farmacêutico e ao considerável aumento das dimensões particulares o que diminui o atrito e a coesão interparticular que, por sua vez, melhora a estabilidade de empacotamento dos granulados.

Tanto o índice de compressibilidade (IC) quanto o fator de Hausner (FH) são guias empíricos que avaliam a estabilidade de empacotamento e são indicadores indiretos das propriedades reológicas. Quanto a essa última inferência há que se ter precaução no seu emprego, visto que existem materiais, por exemplo, fibrilares que

apresentam boa estabilidade de empacotamento, mas fluxo baixo e irregular (COUTO, 2005). Os valores apresentados na tabela 4.5.7 atestam a adequabilidade dos granulados para futura utilização na obtenção de comprimidos uma vez que são bem inferiores aos valores apresentados pela literatura de $< 1,25$ para FH e $< 15\%$ para IC indicativos de sistema com boas características reológicas (VILA JATO, 2001; WELLS, 2005).

O IC e o FH são determinações de ponto final e nem sempre refletem a dinâmica com a qual determinado material particulado densifica. O índice de densificação vem cobrir esta lacuna, pois provê informações sobre o comportamento do material particulado quanto à maior ou menor facilidade de rearranjo podendo inclusive inferir sobre a fase inicial de compactação (VOIGT, 2005). Os valores obtidos para os granulados foram visivelmente inferiores a 20 ml, sugerindo que o rearranjo ocorra de forma gradual (GUYOT e col., 1995). Tal resultado é desejável visto que mudanças abruptas na densidade do complexo farmacêutico durante a compressão, devido às inerentes vibrações do processo, podem ocasionar elevada variação no enchimento da câmara de compressão.

Analisaram-se as propriedades reológicas dos granulados por meio da avaliação direta do fluxo de maneira discreta (tempo final de passagem pelo funil) apresentada na tabela 4.5.8.

Tabela 4.5.8. Análise reológica dos granulados de extrato seco

Fluxo	Granulado	GRPSA40	GRPSA80
	Média \pm s (dpr %)		
Ponderal (g/s)		9,06 ^a \pm 0,14 (1,58)	8,07 ^b \pm 0,15 (1,89)
Volumétrico (ml/s)		18,17 ^a \pm 0,37 (2,06)	18,53 ^a \pm 0,13 (0,71)

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma linha, não diferem pelo teste *t de Student* ($\alpha = 0,05$) presumindo variâncias equivalentes.

Os baixos valores dos coeficientes de variação apresentados pelas respostas demonstram a adequação da técnica e o fluxo regular dos granulados. Optou-se pelo menor diâmetro de abertura do funil (1,0 cm) pela aproximação com o diâmetro da matriz que será utilizada na compressão final, além de causar maior tempo de

escoamento e, por sua vez, menor desvio proporcionado pelo erro na visualização do término da análise.

O fluxo é dependente do atrito interparticular e da coesão dos granulados e explica a igualdade entre os granulados quanto à reologia na unidade volume por tempo. A semelhança dos granulados quanto a sua obtenção, bem como o mesmo perfil de distribuição granulométrica, morfologia (vista posteriormente por MEV) e estabilidade de empacotamento proporcionam este comportamento. A diferença atribuída entre as unidades de resposta se deve à diferença das densidades dos granulados de PSA40 e PSA80.

Couto (2000) investigou o comportamento de fluxo dos granulados de produtos secos por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. nas várias faixas granulométricas com fluxômetro. Os granulados apresentaram comportamento linear e obtiveram resultados que variaram conforme a faixa granulométrica de 8,712 g/s (0,500-0,600 mm) até 9,504 g/s (0,250-0,355 mm). Embora os extratos vegetais sejam diferentes, a composição qualitativa e quantitativa dos adjuvantes é similar, bem como o processo de obtenção e a faixa granulométrica o que explica a proximidade dos resultados.

Igualmente, a resistência mecânica obtida pela friabilidade dos granulados (PRISTA, 2003) foi avaliada. Embora esta técnica não tenha faixa de valores considerados adequados pela literatura, por não ter ampla utilização, tem relevância quando analisada comparativamente. O GRPSA40 e o GRPSA80 apresentaram, respectivamente, friabilidade de 6,46 % e 4,10 %. Esses dados demonstram que o GRPSA80 possui maior resistência à abrasão o que pode se atribuir, em parte, a ser originado de briquetes com menor friabilidade e com maior resistência ao esmagamento radial. Contudo, a diferença entre os resultados é pequena e se deve, em parte, a variável não controlada do experimento, tal como a granulometria das partículas que pode influenciar no resultado obtido.

A friabilidade dos granulados obtidos por Petrovick (2006), cujas características de formulação são muito próximas das apresentadas neste trabalho, foi de 7,35 % (m/m). Quando comparada à outra formulação de extratos secos de *Phyllanthus niruri*

L, Spaniol (2007) obteve granulados com friabilidade de 2,07 %, muito embora, os briquetes tenham apresentado 40 % de friabilidade.

Uma alta resistência mecânica à abrasão garante que operações de mistura do complexo farmacêutico, transporte e alimentação durante a compressão não tenham forte influência sobre a granulometria das partículas.

Com a finalidade de análise do comportamento dos granulados obtidos frente aos passos do processo foram avaliados os aspectos dos mesmos por microscopia óptica e por microscopia eletrônica de varredura. A utilização das fotomicrografias da microscopia eletrônica de varredura juntamente com as fotografias tiradas diretamente da ocular do microscópio óptico auxiliou na avaliação da morfologia, grau de dispersão da distribuição e coloração dos granulados (figuras 4.5.4 a 4.5.6).

Embora a amostragem das técnicas não seja representativa, pode-se observar, a despeito da calibração realizada, alguma dispersão dos tamanhos e da morfologia dos granulados dos dois extratos secos, ora tendendo à esfericidade ora alongados. Este aspecto da morfologia explica, pelo menos parcialmente, a grande variância apresentada no método matemático. A utilização do granulador oscilatório e do moinho de rolos sulcados na produção dos granulados a partir dos briquetes favorece esta elevada variação, visto que utilizam princípios diferentes (concussão, corte e atrito).

A coloração esbranquiçada e afilada espalhada ao longo dos granulados denota a presença de celulose microcristalina. A ausência de pontos escuros nos granulados indica que o processo de granulação parece não exercer influência no aumento do escurecimento, observado inicialmente em ensaios prévios com elevada força de compressão e por Petrovick (2006). A avaliação da coloração se constitui na grande vantagem da microscopia óptica quando comparada ao MEV (apresentada nas figuras 4.5.6 e 4.5.7 em escala cinza).

As fotomicrografias evidenciaram a presença das partículas de PSA nos seus formatos esféricos originais, claramente, distintas das estruturas fibrilares dos adjuvantes. Assim como citado por Spaniol (2007), observa-se o achatamento das

partículas de PSA (figura 4.5.6.f), correspondentes àquelas posicionadas nas superfícies externas do briquete, decorrente da ação direta das superfícies de contato das ferramentas de compressão. Os GRPSA40 e GRPSA80 não apresentaram claras distinções quanto às análises microscópicas.

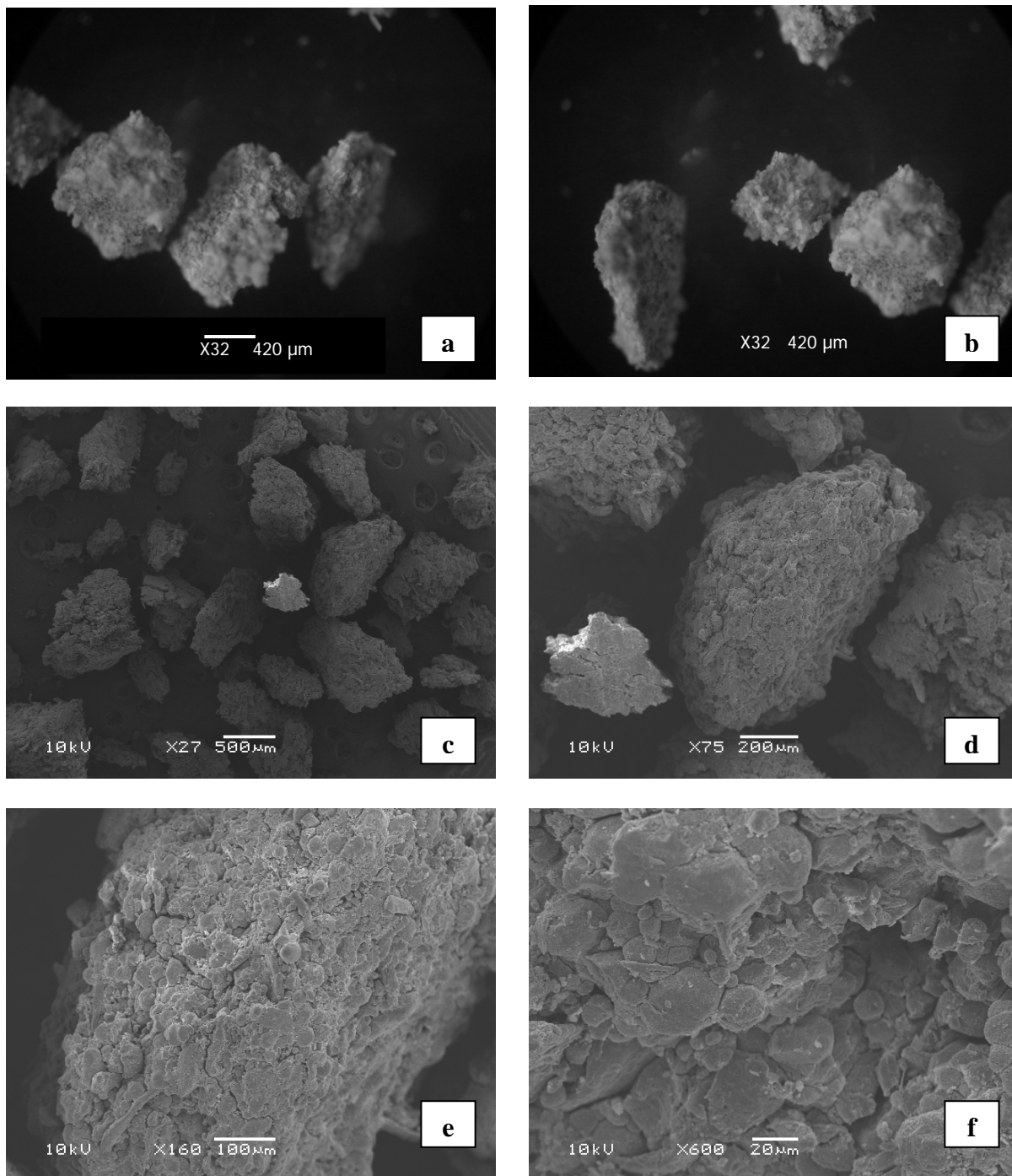


Figura 4.5.5. Fotomicrografias dos granulados de produto seco por aspersão de extrato hidroalcolico a 40 % (v/v) (GRPSA40) com aumentos de 32X (a) e (b), 27X (c), 75X (d), 160x (e) e 600X (f).

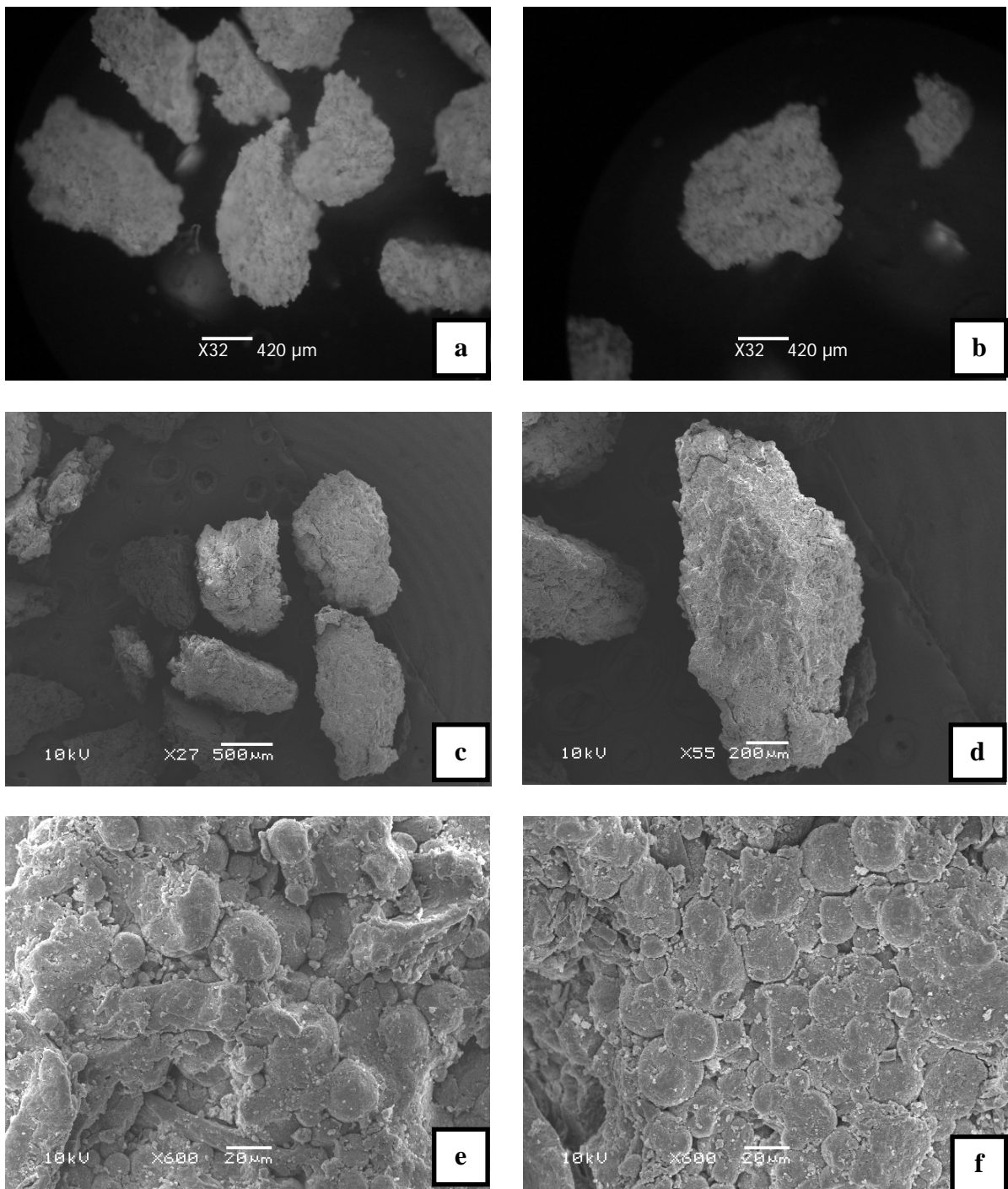


Figura 4.5.6. Fotomicrografias dos granulados de produto seco por aspersão de extrato hidroalcolico a 80 % (v/v) (GRPSA80) com aumentos de 32X (a) e (b), 27X (c), 55X (d), 600X (e) e 600X (f).

Determinadas as características estruturais passou-se à avaliação química dos produtos obtidos. A análise por CLAE foi efetuada de maneira similar à realizada para os PSA (tabela 4.5.9). Os dados da recuperação do GRPSA40 e GRPSA80 tornam clarividente a adequada extração dos flavonóides majoritários, com exceção feita à bichalcona. Os resultados demonstram a não interferência na extração e na estabilidade dos adjuvantes adicionados durante a mistura para a formação dos compactos. Igualmente, a homogeneidade da mistura se mostrou adequada para amostragens de 50 mg (cerca de 5 vezes menor que o peso dos comprimidos finais) tanto na proximidade de 100 % nos resultados da recuperação quanto no baixo valor de variabilidade dos mesmos.

A bichalcona presente no PSA80, no entanto, apresentou um percentual de recuperação de 71,14 % (5,84 %) imputado, principalmente, à estabilidade do mesmo. Mostrando um decréscimo em relação ao seu valor inicial.

Tabela 4.5.9. Recuperação média (%) e respectivos desvios padrões relativos (%) dos flavonóides presentes nos granulados.

Substância Granulado	Pico 1	Quercetina	Luteolina	3-O-Metilquercetina
GRPSA40	100,75* (1,45)	99,40* (1,26)	100,86* (0,83)	98,62 (0,84)
GRPSA80	N.D.	96,77 (1,51)	100,95* (4,27)	97,40* (1,92)

N.D. = não determinado. *Flavonóides que não diferem estatisticamente de 100 % pelo teste de Dunnet ($\alpha = 0,05$).

Além da manutenção dos flavonóides marcadores nos granulados se pode observar por meio das figuras 4.5.7 e 4.5.8 o mesmo *fingerprint* cromatográfico dos PSA originais. Não foi observado nos cromatogramas o aparecimento de outros picos, indicativo de possível degradação.

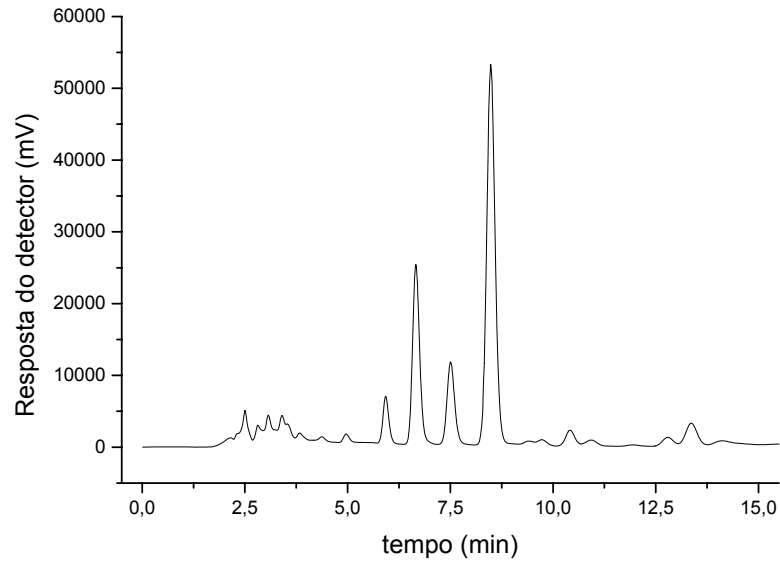


Figura 4.5.7. Perfil cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência do GRPSA40

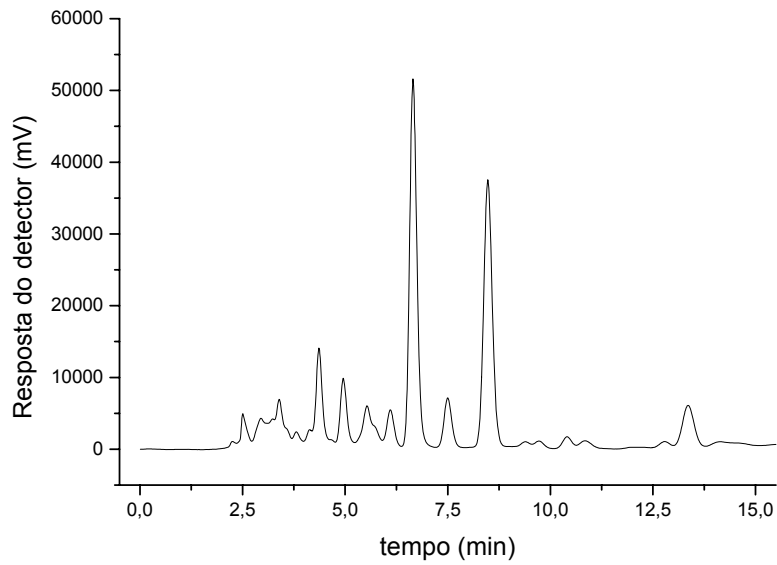


Figura 4.5.8. Perfil cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência do GRPSA80

4.6 CONCLUSÕES

- Os granulados, embora contendo os diferentes PSA, mostraram propriedades tecnológicas adequadas a futura utilização na produção de comprimidos
- As condições do processo não causaram alterações qualitativas e quantitativas dos marcadores flavonoídicos, indicando a estabilidade proporcionada pela formulação.
- Os granulados apresentaram resultados equiparáveis, demonstrando que o fator decisivo está ligado ao processo.

4.7 REFERÊNCIAS

ARMSTRONG, N.A. Tablet Surface Area. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 8, p. 193-218.

BULTMANN, M. J. Multiple Compaction of Microcrystalline Cellulose in a Roller Compactor. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, p. 59-64, 2002.

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

CHARNET, R.; FREIRE, A.D.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de modelos de regressão linear com aplicações**. Campinas: Unicamp, 1999.

COUTO, A.G.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Caracterização tecnológica do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v. 20, n. 3, p. 189-196, 2001.

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

COUTO, A.G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Granulação. **Caderno de Farmácia**, v. 16, n. 1, p. 13-20, 2000.

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. e controle de qualidade de matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

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

EUROPEAN PHARMACOPEIA. 3. Amtliche Deutsche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1997. 1777p.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 400p.

GIRALDO, J.; VIVAS, N.M.; VILA, E.; BADIA, A. Assessing the (a)symmetry of concentration-effect curves: empirical versus mechanistic models. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 95, p. 21-45, 2002.

GUYOT, J.C; ARNAUD, P.; BECOURT, P.; CASSIERE, J.P.; CHULIA, D.; DUCHÉNE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, C.; MALFROID, F.; POURCELOT, Y.; RENOUX, R.; SERGOT, S; TOURE, P. Commentaires relatifs aux methods générales d'analyse dès formes orales solides récemment introduites dans lês pharmacopées française et européenne. Rapport d'une commission SFSTP. **S.T.P Pharma Pratiques**, v. 5, n. 6, p. 482-494, 1995.

HAUSNER, H.H. Friction conditions in a mass of metal powder. **International Journal of Powder Metallurgy**, v. 3, n. 4, p. 7-13, 1967.

HEMATI, M.; CHERIF, R.; SALEH, K.; PONT, V. Fluidized bed coating and granulation: influence of process-related variables and phytochemical properties on the growth kinetics. **Powder Technology**, n. 130, p. 18-34, 2003.

HERTING, M.G.; KLEINEBUDDE, P. Studies on the reduction of tensile strength of tablets after roll compaction / dry granulation. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 372-379, 2008.

HOLZSCHUH, M.H. **Estudo de estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

IVENSON, S.M.; LITSTER, J.D.; HAPGOOD, K.; ENNIS, J.B. Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: a review. **Powder Technology**, v. 117, p. 3-39, 2001.

KOCHHAR, S. K.; RUBINSTEIN, M.H.; BARNES, D. The effects of slugging and recompression on pharmaceutical excipients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 115, p. 35-43, 1995.

LANTZ, R.J. Size reduction. In: LIEBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (Ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2.ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 2, Cap. 3, p. 107-199.

LIST, P.H.; SCHMIDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

METZ, F. The surface area of magnesium stearate: an example for a complex analysis task. In: MÜLLER, R.H.; MEHNERT, W. (ED.). **Particle and Surface Characterization Methods**. Stuttgart: Medpharm Scientific, 1997. Cap. 13, p. 209-213.

NEWMAN, A.W. Micromeritics. In: BRITAIN, H.G. (Ed.). **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 9, p. 253 – 280.

PARROT, E.L. **Pharmaceutical Technology: fundamental pharmaceuticals**. Minneapolis: Burgess Publishing Company, 1970. 415p.

PETROVICK, G.F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

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

REGAZZI, A.J. Teste para verificar a igualdade de parâmetros e a identidade de modelo de regressão não-linear. **Revista Ceres**, v. 50, n. 287, p. 9 - 26, 2003.

SOARES, L. A. L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETOVICK, P. R.; SCHMIDT, P. C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E359 – E366, 2005.

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

SUMMERS, M.; AULTON, M. Granulação. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 25, p. 369-383.

SUN, C.C.; HIMMELSPACH, M.W. Reduced tabletability of roller compacted granules as a result of granule size enlargement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 1, p. 200 – 206, 2006.

STANIFORTH, J. Análise do tamanho de partícula. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 10, p. 162-176.

STANIFORTH, J. Redução do tamanho de partícula. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 11, p. 177-184.

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

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

WELLS, J.I. **Pharmaceutical Preformulation: the Physicochemical Properties of Drug Substances**. London: Ellis Horwood, 1988.

WESTERMARCK, S.; JUPPO, A.M.; KERVINEN, L.; YLIRUUSI, J. Pore structure and surface area of mannitol powder, granules and tablets determined with mercury porosimetry and nitrogen adsorption. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutics**, v. 46, p. 61-68, 1998.

5 **CAPÍTULO 4: DESENVOLVIMENTO, OTIMIZAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS GRANULADOS CO-PROCESSADOS DE ADJUVANTES**

5.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

As estratégias mais empregadas para a obtenção de comprimidos de liberação imediata, contendo o componente biologicamente ativo na forma de granulado, consistem basicamente na adição de desintegrante à fase interna, fase externa ou ainda a ambas (RITSCHEL e BAUER-BRANDL, 2002). A limitação da adição de desintegrante à fase externa fundamenta-se na possível segregação das partículas finas ocasionando perfis de cedência distintos (COUTO, 2005). A obtenção de misturas ordenadas, em muitos casos improvável, nem sempre é garantia de ausência de segregação (TWITCHELL, 2005).

Uma abordagem que contorna esse problema é a produção de granulado co-processado que incorpore o desintegrante no seu interior (COUTO, 2005). Igualmente, o granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ) pode servir como material de enchimento e carga ou/e melhorar as características compressionais da formulação.

Apesar das diferenças nas propriedades dos granulados oriundos da granulação por via seca e úmida, os mesmos possuem certa complementaridade. Os granulados por via úmida, devido à presença e distribuição do aglutinante, além da inexistência de prévia compressão, geralmente, conservam ou potencializam as propriedades compressionais dos seus constituintes originários. A granulação por via seca, como visto no capítulo precedente, é o modo mais adequado de preparo da fase interna de extratos vegetais de *Achyrocline satureioides* secos por *spray drying*, porém acarreta diminuição da comprimibilidade. Sendo assim, a opção pela granulação via úmida para o granulado co-processado de adjuvante é natural.

Granulação é um exemplo de *design* de partículas. Os atributos desejados dos granulados são controlados por uma combinação de inúmeros fatores de formulação (aglutinante e solvente) e de processo (tipo de granulador e parâmetros operacionais). O aspecto multifatorial da granulação torna, por vezes, necessário um intensivo estudo de formulação e otimização (IVENSON e col., 2001). O granulado co-processado de adjuvantes influencia diretamente propriedades cruciais dos comprimidos finais (ex.

biodisponibilidade), logo se deve proceder a um estudo pormenorizado com igual zelo ao despendido para os granulados da fase interna.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver, otimizar, produzir e caracterizar tecnologicamente granulados co-processados de adjuvantes obtidos por meio da técnica de granulação por via úmida por desagregação considerando sua posterior utilização em processo de compressão.
- Avaliar a influência da concentração do aglutinante e do modo de adição deste adjuvante sobre as características tecnológicas dos granulados co-processados de adjuvantes e de comprimidos.

5.3 REVISÃO DO TEMA

A granulação por via úmida implica na formação de uma massa de mistura de partículas pulveréas primárias, usando-se um meio líquido de granulação. Desta maneira, a adesão primária entre os componentes da formulação é alcançada pela instalação de um meio líquido no leito sólido, capaz de imobilizar as partículas, gerando, ao seu redor, um ambiente de elevada viscosidade e adesividade, com a formação de pontes líquidas entre as mesmas. Esse líquido de preferência deverá ser um solvente volátil e atóxico sendo, normalmente, a água. As vantagens do emprego de água são o baixo custo, o menor dano ambiental, ausência de toxicidade e de inflamabilidade. O tempo de secagem elevado e a hidrólise são desvantagens do uso de água como solvente, mas não são fatores capitais na produção de granulados co-processados de adjuvantes (SUMMERS e AULTON, 2005; COUTO, 2005).

Quanto ao modo de adição do adjuvante aglutinante podem ser distinguidos dois métodos de preparo. A substância aglutinante pode ser adicionada à mistura de pós a seco (aglutinante extemporâneo ou *in situ*) ou dispersa no solvente (aglutinante em dispersão). A massa úmida oriunda desses dois métodos apresentará propriedades diferenciadas devido, especialmente, a dispersão parcial do aglutinante no modo *in situ*. Há opiniões contraditórias quanto o melhor método com relação ao alcance da maior homogeneidade da distribuição deste adjuvante. Aglutinantes empregados

tradicionalmente são amido, sacarose e gelatina. Estes foram substituídos atualmente por polímeros com altas propriedades adesivas, tais como a povidona e derivados de celulose (COUTO e col., 2000; VOIGT, 2005; ALDERBORN, 2005; CARSTENSEN, 2001; LEVIN, 2007).

A superfície líquida adsorvida nos pós reduz as imperfeições e aumenta o contato interparticular por diminuição efetiva das distâncias. Com adição de mais líquido, a superfície líquida muda de um estado imóvel para um filme líquido com mobilidade. A teoria da granulação define, atualmente, quatro estados que representam um gradual aumento do conteúdo de umidade, são eles: pendular, funicular, capilar e de suspensão (estado de gota). O mecanismo de granulação pode ser considerado uma mudança de um estágio trifásico (gás – líquido – sólido) no qual os aglomerados estão em estado pendular ou funicular, para um estágio bifásico (líquido – sólido), na qual os aglomerados estarão no estado capilar ou goticular (AUGSBURGER e MURALI, 1997).

O processo de granulação, no entanto, pode ser discriminado hodiernamente em três etapas. O umedecimento-nucleação é a etapa em que o aglutinante disperso entra em contato com as partículas de pó seco e permite uma distribuição homogênea deste líquido. O conhecimento desta fase é limitado, pois é raramente identificada e separada de outras etapas. A consolidação-crescimento consiste na etapa onde colisões entre aglomerados, aglomerados-pó, ou aglomerados e o equipamento levam a densificação e ao incremento de massa (IVENSON e col., 2001). De modo geral, o estado capilar é necessário nesta fase, embora os estados pendular e funicular também são partícipes (TARDOS e col., 1997). A etapa final, atrito-fratura, resulta da quebra devido ao impacto, revestimento ou compactação no granulador ou durante subsequente manipulação (IVENSON e col., 2001).

Após a mistura seca dos componentes pulveréos segue a etapa de umidificação que pode ser realizada separadamente em misturadores planetários e malaxadores (duplo sigma) ou em equipamentos especiais que incluem a formação do granulado. Nos primeiros, o líquido de granulação é adicionado de forma gradual, em ciclos, a fim de que ocorra homogeneidade na sua distribuição. Quando se atinge o ponto final, a massa úmida é retirada do equipamento e, a seguir transferida para granuladores.

Os granuladores usados na via úmida podem ser classificados em granuladores de pressão, granuladores de alto cisalhamento e granuladores de leito fluidizado (SUMMERS e AULTON, 2005). Nos granuladores de pressão, tradicionalmente usados, força-se a passagem da massa úmida por um tamis, cuja malha determina a granulometria. A umidade em excesso da massa úmida pode resultar na produção indesejada de filamentos do material ou granulado excessivamente duro, enquanto a baixa umidade pode redundar em ineficiência da granulação com a produção de aglomerados de baixas dimensões.

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

Nas torres de granulação a aglomeração ocorre por choques entre as partículas dos pós envoltas com o líquido de granulação. A dimensão dos aglomerados é determinada, entre outras co-variáveis de processo, pela vazão do ar de alimentação. A fase de secagem pode acontecer no mesmo equipamento depois de terminada a fase de aglomeração (PARIKH e col., 1997).

Dependendo da estratégia tecnológica utilizada, os granulados são coletados e transferidos para secadores, tais como estufas de ar circulante ou torres de secagem de leito fluidizado. A temperatura não deve ser excessivamente alta, visto que pode formar uma crosta na superfície do granulado que impede secagem ulterior do seu cerne. A fim de obter granulados com distribuição granulométrica apropriada se realiza uma operação de tamisação adicional, denominada de calibração, eliminando-se os granulados fora da faixa de interesse (SUMMERS e AULTON, 2005; PRISTA, 2003).

Durante a secagem as pontes líquidas, pré-requisito para as ligações mais permanentes, são parcialmente substituídas por pontes sólidas advindas da evaporação da fase líquida cujo mecanismo estruturante consiste na consolidação do aglutinante ou recristalização de substâncias dissolvidas (SUMMERS e AULTON, 2005; FARBER e col., 2003).

O elevado tempo de duração do processo, a necessidade de empregar vários equipamentos e o baixo rendimento são as principais desvantagens do processo de granulação tradicional. Apesar disso, é robusto quanto à variabilidade da matéria-prima. O ponto final do processo da massa é determinado por inspeção podendo, em máquinas instrumentadas, empregar-se o torque como medida auxiliar. Outras técnicas que estão sendo empregadas são os sensores piezoelétricos de emissão acústica, consumo de energia do motor, espectroscopia no infravermelho próximo e mensurações com feixe de laser (SUMMERS e AULTON, 2005; LEVIN, 2007).

A importância de alcançar a umidade correta no ponto de massa se deve à obtenção do estado capilar onde a união das partículas ocorre por sucção capilar na interface líquido/ar que permite obter grânulos com maior resistência à tensão quando comparados aos estados com menor teor de solvente. Outrossim, o estado de gota leva a uma queda irreversível nas propriedades coesivas e adesivas da massa úmida (SUMMERS e AULTON, 2005).

Couto (2005), baseada na necessidade de obtenção de comprimidos com elevado teor do componente ativo com tempo de desintegração e dureza adequados, realizou um amplo estudo de formulação a fim de decidir pelo modo de adição e constituição dos adjuvantes da fase externa. Os resultados iniciais atestaram a necessidade de co-processamento devido à melhor similitude granulométrica com os granulados da fase interna e também à redução do tempo de desintegração. Testou-se a influência de três superdesintegrantes: amidoglicolato de sódio, croscarmelose sódica e crospovidona a partir de misturas binárias com celulose microcristalina em três concentrações intragranulares (12,6; 37,9 e 63,1 % m/m). A elevada concentração dos superdesintegrantes nos granulados da fase externa, cuja natureza polimérica causa, na presença de água, a formação de suspensão com alta viscosidade tornou dispensável a adição de aglutinante.

O comportamento de densificação e de compressão, assim como a sorção da umidade foram avaliados nos granulados produzidos. Utilizando a equação de Heckel se pode verificar que o mecanismo de deformação plástica foi predominante em todos os granulados, atribuído à presença de celulose microcristalina. Apenas os comprimidos contendo granulado com amidoglicolato apresentaram incremento de

comprimibilidade (comportamento da resistência à tensão em função da pressão empregada) quando comparados ao granulado de celulose microcristalina (COUTO, 2005).

Spaniol (2007) produziu granulados co-processados de celulose microcristalina e amidoglicolato (62,1 %) baseado nos estudos precedentes de Couto (2005). Da mesma forma, o procedimento de granulação por via úmida por desagregação foi similar. A escolha do amidoglicolato nestas concentrações se deveu às características do granulado produzido, principalmente, ao rendimento da operação de granulação e às características tecnológicas do produto final. De acordo com Couto (2005), o emprego de granulado co-processado de amidoglicolato resultou em comprimidos com características tecnológicas superiores às demais formulações.

5.4 PARTE EXPERIMENTAL

5.4.1 Materiais

Para a obtenção dos granulados co-processados foram empregados como aglutinante metilcelulose (Methocel A15, The Dow Chemical Company, New York/USA, lote UL15012N21)¹; como desintegrante amidoglicolato de sódio (Explosol[®], Blanver, Cotia/Brasil; lote 19201/97)¹, como material de enchimento e carga celulose microcristalina (Microcel[®] MC 101, Blanver, Cotia/Brasil; lote 221/05)¹, como lubrificante estearato de magnésio (Acros Organics, New Jersey/USA, Lote A0235781) e, como solvente, água destilada e ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA).

5.4.2 Equipamentos², acessórios e correlatos

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

Analisador de área superficial específica QuantaChrome Autosorb-1 (LACER/UFRGS)²;

Analisador de umidade por infra-vermelho Gehaka IV-2000;

¹ O autor agradece a Colorcon do Brasil pela doação dos adjuvantes.

² e às Unidades citadas pela gentil disponibilização dos equipamentos

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

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

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

Difratrômetro de laser Cilas 1180 (LACER/UFRGS)²;

Durômetro Schleuninger 2E-106;

Estufa de ar circulante Memmert, TV 60UL;

Estufa DeLeo (LACER/UFRGS)²;

Friabilômetro tipo Roche J. Engelsmann, de acordo com Farmacopéia (1988);

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

Máquina de comprimir rotativa intrumentalizada Riva Piccola com punções côncavos de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm (CDTF/UFRGS)²;

Metalizador Jeol Jee 4B, JVG-IN (CEM/UFRGS)²;

Micrômetro digital Mitutoyo 0 – 25 mm/1”;

Microscópio eletrônico de varredura Jeol-JSM 6060 (CEM/UFRGS)²;

Microscópio óptico Jena;

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

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

Picnômetro de hélio Quanta Chrome modelo MVP1 (LACER/UFRGS)²;

Purificador de água Milli-Q Plus Millipore (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

Software estatístico Minitab[®] versão 14;

Software para modelos matemáticos CurveExpert versão 1.37;

Volúmetro de compactação J. Engelsmann (EUROPEAN, 1997).

5.4.3 Métodos

5.4.3.1 Produção do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ)

A tabela 5.4.3.1 mostra as formulações utilizadas nos testes preliminares, bem como na fase de otimização da granulação por via úmida por desagregação.

Nos testes preliminares, para cada formulação e variante de processo, foi obtido um lote de GRADJ, enquanto que na fase de otimização realizaram-se dois lotes de cada tratamento.

Tabela 5.4.3.1. Formulações e técnicas utilizadas no preparo de granulado co-processado de adjuvantes nas etapas preliminar e de otimização.

Modo de uso de aglutinante	Concentração do aglutinante (%; m/m)					
	3,0	4,5	6,0*	7,5	9,0*	12,0
Extemporâneo						
Dispersão						

* formulações que foram utilizadas também no desenho fatorial

Os outros constituintes utilizados foram o amidoglicolato de sódio (3,6 %, m/m), em concentração ponderal constante, e a celulose microcristalina (q.s.).

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

Mistura dos adjuvantes

Para produção de lotes de 150 g foi utilizado o misturador em Y para a mistura dos adjuvantes durante 15 min a 23 rpm com o volume de operação inferior a metade da capacidade nominal (1 L) do misturador. No método em dispersão o aglutinante não foi misturado conjuntamente.

Umedecimento

No modo *in situ*, aspergiu-se água fria (resfriada na geladeira e mantida sob gelo) de forma intermitente, intercalando com fases de mistura sem adição de água, sobre a matriz pulveréa com auxílio do misturador em sigma até que atingisse o ponto de massa. Anotou-se o peso de água gasto pela diferença de massa antes e após o término da fase de umidificação. A operação total durou aproximadamente 1 h. A

umidade presente na massa foi avaliada por meio de balança com sistema de secagem por infravermelho, a partir de amostras de 1,10 g, em triplicata.

No modo em dispersão, a dispersão do aglutinante foi preparada no dia anterior (aproximadamente 15 horas antes), com cerca de 80 g de água. Agitou-se com bastão de vidro e foi posto na geladeira. A dispersão foi posta de forma intermitente no malaxador, alternando com períodos de mistura sem adição da fase líquida. Quando necessário, foi aspergida água fria, para obtenção do ponto de massa, anotando-se o volume empregado. O procedimento durou cerca de 1 h. De igual forma, como descrito acima, avaliou-se a umidade presente na massa úmida.

Granulação da massa úmida

A massa úmida foi submetida à passagem através de tamis com abertura de malha de 1,0 mm, empregando-se força manual com auxílio de espátula de plástico flexível, depositando os granulados sobre papel pardo.

Secagem

Os granulados úmidos foram colocados em estufa de ar circulante à temperatura de 41 ± 2 °C, durante um período de 12 h.

Calibração granulométrica

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

5.4.3.2 Caracterização dos granulados dos testes preliminares

5.4.3.2.1 Determinação da perda por dessecação

O teor de umidade foi determinado por método gravimétrico, em balança com sistema de secagem por infravermelho. Cerca 1,10 g de granulado, exatamente pesado, foi depositado em recipiente de alumínio, previamente tarado, e dessecado nas

seguintes condições de secagem: *autodry* (0,3 %) e temperatura de 105 °C. Este ensaio foi realizado em triplicata sendo a balança pré-aquecida inicialmente.

5.4.3.2.2 Análise granulométrica por tamisação (FARMACOPÉIA, 1988)

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

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

A fim de realizar uma melhor comparação interamostral, o equivalente a 11 g (cerca de 40 ml) de granulado constituído de 3 g das frações de 850 - 710 µm e 250 - 425 µm, 2 g das frações de 425 - 500 µm e 600 - 500 µm e 1 g da fração de 600 - 710 µm, foi transferido cuidadosamente para proveta de 100 ml sendo a mesma tampada e acoplada a friabilômetro. O conjunto montado permaneceu em rotação por 15 min a 20 rpm. Ao final o granulado foi novamente tamisado para eliminação dos finos com tamises de abertura de malha de 250 µm e 105 µm e as porções retidas foram pesadas.

5.4.3.3 Planejamento fatorial: otimização de formulação

A tabela 5.4.3.2 resume o desenho experimental realizado. A composição dos granulados está descrita na tabela 5.4.3.1. O fator “modo de preparo” por ser de ordem qualitativa teve seu nível arbitrariamente chamado de alto (+) para o modo em dispersão e baixo (-) para o modo extemporâneo. Realizou-se o experimento com uma repetição.

Tabela 5.4.3.2. Matriz experimental do planejamento fatorial 2² com as variáveis naturais e codificadas

Experimento	Variáveis codificadas		Variáveis naturais	
	Modo de preparo	Conc. aglutinante	Modo de Preparo	Conc. aglutinante (% m/m)
1	-	-	Extemporâneo	6
2	+	-	Dispersão	6
3	-	+	Extemporâneo	9
4	+	+	Dispersão	9

As variáveis de resposta avaliadas foram rendimento, teor de umidade residual da massa úmida e do granulado, diâmetro médio, friabilidade, fluxo e densidades bruta (Db) e compactada (Dc). O resultados do teor de umidade, fluxo, Db e Dc representam a média de três determinações.

5.4.3.3.1 Determinação da perda por dessecação

Conforme descrito no item 5.4.3.2.1. Realizou-se o experimento com a massa úmida e com os granulados.

5.4.3.3.2 Análise granulométrica

Conforme descrito nos itens 5.4.3.2.2.

Utilizou-se o programa matemático CurveExpert versão 1.37 para avaliação da melhor transformação dos dados de frequência acumulada inversa percentual, na faixa de interesse de 250 – 850 µm, pelo ponto médio do intervalo. O modelo com a transformação do logaritmo natural pode ser linearizado e utilizado no cálculo do diâmetro médio (mediana), bem como na razão entre o percentil 84 % pela mediana para obtenção do desvio padrão da distribuição (WELLS, 1988).

5.4.3.3.3 Friabilidade

Conforme descrito no item 5.4.3.2.3.

5.4.3.3.4 Análise do granulado por microscopia eletrônica de varredura

As amostras foram metalizadas utilizando um filme de ouro sob o *stab*. A morfologia e a superfície particular foram observadas.

5.4.3.3.5 Determinação do fluxo discreto

Realizou-se por meio do escoamento dinâmico do material particulado em equipamento dotado de funil com orifício de 1,0 cm. As análises foram realizadas com 50 ml do material medido em proveta e pesado para avaliação do fluxo nas unidades ml/s e g/s respectivamente. Por meio do acionamento manual e da utilização de cronômetro mediu-se o tempo final de escoamento.

5.4.3.3.6 Avaliação da densidade bruta e compactada, fator de Hausner, Índice de compressibilidade e índice de densificação (CARR, 1965; HAUSNER, 1967; VOIGT, 2005)

Com o auxílio de volúmetro de compactação, o granulado foi submetido a 10, 500 e 1250 quedas seqüenciais se anotando os respectivos volumes. O experimento foi continuado com séries de 1250 quedas até que a diferença entre as leituras subseqüentes não ultrapassasse 0,1 ml, obtendo-se assim o volume compactado, que representa o sistema de empacotamento estável do sistema particulado (V_c). Utilizaram-se 2 g de amostra em proveta de 10 ml em triplicata.

Os demais parâmetros foram calculados conforme item 2.4.3.7.

5.4.3.4 Avaliação das características dos comprimidos advindos de GRADJ

As formulações do planejamento fatorial previamente realizado, apenas a primeira das repetições, foram submetidas à compressão em máquina rotativa instrumentalizada Riva Piccola com punções côncavos de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm. Avaliaram-se as características que tais granulados concederam a forma farmacêutica comprimido.

5.4.3.4.1 Produção dos comprimidos dos granulados co-processados de adjuvantes

Realizou-se a pesagem individual dos granulados co-processados de adjuvantes (250 mg) devido à pequena quantidade disponível e a fim de obter maior precisão. A compressão foi ajustada para obtenção de comprimidos com dureza superior ao mínimo preconizado pela farmacopéia entre a faixa de 50 e 60 N e com força de compressão na faixa de 3,4 a 3,9 kN. Os ajustes na máquina de comprimir rotativa foram os mesmos para as formulações de GRADJ, exceção feita ao granulado contendo 6 % (m/m) de metilcelulose em dispersão que teve a penetração do punção superior modificada para melhor ajuste da dureza. Para cada formulação foram produzidos 30 comprimidos, sendo anotadas as respectivas forças máximas de compressão e forças de ejeção. As ferramentas de compressão foram lubrificadas com estearato de magnésio previamente à produção dos compactos de cada formulação.

5.4.3.4.2 Caracterização dos comprimidos obtidos dos granulados co-processados de adjuvantes

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

A aparência foi visualmente avaliada. As dimensões foram realizadas 24 h após a compressão por meio da mensuração em paquímetro digital da espessura total (h), diâmetro (d) e espessura dos bordos (h_b) dos comprimidos. Toda a população de comprimidos produzidos foi avaliada. O volume foi calculado pela seguinte equação 5.1:

$$V = \pi \cdot (r^2 \cdot h + r^2 \cdot h_c + 3 \cdot h_c^3) \text{ (eq. 5.1)}$$

onde, V = volume (mm^3); r = raio; e h_c = altura da calota, calculada a partir da equação 5.2:

$$h_c = \frac{h - h_b}{2} \text{ (eq. 5.2)}$$

5.4.3.4.2.2 Determinação do peso médio

Toda a população amostral de comprimidos foi pesada individualmente em balança analítica e calculados o peso médio e o desvio padrão relativo.

5.4.3.4.2.3 Densidades real, aparente, relativa e porosidade

A densidade real dos comprimidos foi avaliada por meio dos dados provindos da análise dos seus constituintes iniciais em picnômetro de hélio.

A densidade aparente, densidade relativa e porosidade dos comprimidos foram avaliadas conforme item 3.4.3.2.4.

5.4.3.4.2.4 Determinação da dureza

A dureza de 7 compactos foi determinada medindo-se a resistência ao esmagamento radial em durômetro.

5.4.3.4.2.5 Determinação da resistência à tensão (PITT, NEWTON, STANLEY, 1988)

O cálculo para a obtenção da resistência à tensão para comprimidos biconvexos pode ser determinado pela equação 5.3:

$$\sigma_f = \frac{10 \cdot D}{\pi \cdot d^2} \left(2,84 \cdot \frac{h}{d} - 0,126 \cdot \frac{h}{h_b} + 3,15 \cdot \frac{h_b}{d} + 0,01 \right)^{-1} \text{ (eq. 5.3)}$$

onde, σ_f = resistência à tensão (kN/cm²); D = força de fratura aplicada (kN); d = diâmetro (cm); h_b = espessura dos bordos (cm); h = espessura total do comprimido (cm).

5.4.3.4.2.6 Cálculo para determinação da pressão de compressão

A pressão de compressão (MPa) foi calculada pela razão entre a força compressional aplicada (N) e área do punção superior (mm²). O cálculo da área do punção superior, por sua vez, foi obtido a partir de equação de área para semi-esferas.

5.4.3.4.2.7 Determinação do índice de coesividade (COUTO, 2005)

O índice de coesividade (ICs) foi calculado pela razão entre a resistência à tensão (MPa) e pressão de compressão (MPa).

5.4.3.4.2.8 Determinação da friabilidade (FARMACOPÉIA, 1988)

Executado conforme preconiza a Farmacopéia Brasileira IV. A amostragem, no entanto, foi de 10 comprimidos.

5.4.3.4.2.9 Determinação do tempo de desintegração (FARMACOPÉIA, 1988)

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

5.4.3.4.2.10 Determinação do volume de recuperação dos comprimidos (LIONÇO e col., 2002)

Efetuuou-se a medida da distância (Δ_p) entre as superfícies dos punções na fase de compressão em que esses mantêm a menor distância entre si durante um determinado tempo (*dwel time*). A medida da penetração dos punções na matriz, conhecendo-se a espessura da mesa, possibilitou por meio da subtração da espessura pela soma da penetração dos dois punções se obter o volume da câmara de compressão pela equação 5.4:

$$V_{cp} = V_{cpl} + V_{cps} + \pi \cdot r_m^2 \cdot \Delta_p \text{ (eq. 5.4)}$$

onde, V_{cp} = volume mínimo da câmara de compressão (mm³) no momento de compressão; V_{cpl} = volume da concavidade do punção inferior (mm³); V_{cps} = volume da concavidade do punção superior (mm³); r_m = raio da matriz (mm); Δ_p = distância entre os punções no momento da compressão (mm).

O volume de recuperação foi realizado em todos os comprimidos e sendo calculado com auxílio da equação 5.5 a seguir:

$$Vr = \frac{Vc - Vcp}{Vc} \cdot 100 \text{ (eq. 5.5)}$$

onde, V_r = volume de recuperação (%); V_c = volume do comprimido (mm^3) 24 h após a compressão; V_{cp} = volume mínimo da câmara de compressão (mm^3) segundo a equação 5.4.

5.4.3.5 Produção, padronização e caracterização do granulado co-processado de adjuvante com 9 % de metilcelulose em dispersão

5.4.3.5.1 Produção do granulado co-processado de adjuvantes selecionado

Os granulados escolhidos foram os advindos da formulação contendo 9 % (m/m) de metilcelulose adicionada na forma de dispersão sobre a massa de pós (GRADJ9%DIS). Produziram-se seis lotes que seguiram, exatamente, o procedimento estabelecido no item 5.4.3.1.

5.4.3.5.2 Padronização do granulado co-processado de adjuvantes

Essa etapa visou padronizar a composição granulométrica do GRADJ9%DIS produzido tornando-a similar à dos granulados de produto seco por aspersão (GRPSA). O primeiro objetivo foi minimizar a possibilidade de segregação da formulação no complexo farmacêutico. Os granulados foram tamisados conforme o item 5.4.3.2.2. As frações, referentes aos granulados retidos nos tamises (250 – 710 μm) foram empregadas para a constituição do GRADJ40 e GRADJ80 que levou em consideração a distribuição granulométrica ponderal do GRPSA40 e GRPSA80, respectivamente. O GRADJ40 e o GRADJ80 tiveram suas frações granulométricas, separadamente, homogeneizadas em misturador em Y.

5.4.3.5.3 Caracterização

Os granulados produzidos em cada um dos lotes foram caracterizados quanto à perda por dessecação (item 5.4.3.2.1), análise granulométrica por tamisação (item 5.4.3.2.2) e rendimento, anteriormente à seleção granulométrica. Os GRADJ40 e GRADJ80 foram avaliados quanto à friabilidade (item 5.4.3.2.3), densitometria (item 5.4.3.3.6) e reologia (item 5.4.3.3.5). A área superficial específica foi realizada

conforme item 4.4.3.2.9, bem como a análise granulométrica por difração a laser segundo o item 4.4.3.2.3.c.

5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O granulado co-processado de adjuvantes, fase externa planejada para os comprimidos, foi constituída de amidoglicolato de sódio em concentração constante, como superdesintegrante, celulose microcristalina, como material de carga, sobre a qual existe vasto conhecimento na literatura científica, e metilcelulose de baixo grau de viscosidade, como aglutinante, em concentrações diferenciadas, todos possuindo deformação predominantemente plástica. A escolha do material de carga e do desintegrante foram realizadas previamente, baseadas em estudos anteriores (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007) visto que as condições de trabalho e equipamento são semelhantes e os resultados indicam a viabilidade de transposição. Quanto à concentração do desintegrante, este aspecto levou em consideração a relação fase interna/fase externa (1:3) e a quantia de granulado co-processado necessária na fase externa para constituição dos comprimidos.

A opção pela metilcelulose foi abalizada em seus atributos favoráveis à formação de granulado por granulação via úmida e posterior compressão. A metilcelulose é constituída de uma longa cadeia de celulose na qual aproximadamente 27 a 32 % dos grupos hidroxilas estão na forma metoxilada. Está disponível em uma ampla variedade de graus de substituição e de peso molecular médio. Possui baixa solubilidade em água a quente, no entanto, forma uma dispersão viscosa em água fria. A metilcelulose pode ser utilizada na granulação via úmida no modo *in situ* ou dispersão, assim como na granulação por via seca. Produz granulados que comprimem facilmente formando comprimido robusto, com dureza moderada e que não endurece com o tempo (KHANKARI e HONTZ, 1997). Além disso, são atribuídas à metilcelulose propriedades desintegrantes em baixas concentrações (RUDNIC e SCHWARTZ, 2005).

Polímeros com baixa viscosidade são preferidos como aglutinante, devido à possibilidade de se realizar um ajuste mais fino na concentração durante a procura da

quantidade de aglutinante ótima. Tal lógica resultou na escolha da Methocel A15. É de suma importância que se busque o equilíbrio entre as boas propriedades aglutinantes e as deletérias, tais como retardamento ou incompleta dissolução.

A eficiência do aglutinante está atrelada há inúmeros fatores tais como, propriedades do aglutinante, tipo de solvente, interação entre o aglutinante e o substrato e o método de processo usado (que possuem outras inúmeras variáveis). Sendo assim, prever o efeito de um determinado aglutinante em um sistema particular é de fato complexo e deve ser avaliado de forma experimental. A concentração da celulose microcristalina variou conforme a concentração da metilcelulose, para este último componente se realizou um estudo de otimização da sua concentração e modo de preparo.

Para a produção de um granulado com adequadas características tecnológicas bem como similaridade com os GRPSA, testaram-se os dois modos de preparo e várias concentrações do aglutinante. A concentração inicial testada foi baseada na literatura (1 – 5 %, m/m) e de dados do fabricante (3 - 6 %, m/m) (KHANKARI e HONTZ, 1997). A escolha inicial pelo método extemporâneo se deveu a sua maior praticidade, bem como a sua utilização em formulações com similares características qualitativas e processo idêntico (COUTO, 2005).

As variáveis de resposta das formulações iniciais foram o rendimento e a friabilidade haja vista que a primeira informa o dispêndio de tempo e material necessários para obter uma determinada quantidade de granulado (produtividade), enquanto a variável subsequente define se o material possui resistência mecânica suficiente para ser submetido a outras operações (ex. mistura) sem alteração da granulometria.

As formulações inicialmente testadas, contendo 3 e 4,5 % (m/m) do aglutinante no modo de preparo extemporâneo, apresentaram baixo rendimento (10 a 30 %) e fraca resistência mecânica, com friabilidade acima de 30 %. Tal fato evidenciou necessidade de se aumentar a concentração de metilcelulose, entretanto, esse acréscimo no aglutinante não resultou em claras melhorias no rendimento e/ou

friabilidade. A formulação contendo 12 % (m/m) do aglutinante no modo extemporâneo, embora tenha apresentado uma melhora, permaneceu com rendimento baixo de 37 % e friabilidade de 18 %. A concentração de 12 % (m/m) de aglutinante foi o ponto limite de concentração utilizável visto que a fase externa deverá se constituir de grânulos que facilitem a desintegração e, por conseguinte a cedência dos ativos do comprimido final. As formulações contendo 6 % e 9 % do aglutinante apresentaram resultados semelhantes à formulação com o maior teor deste adjuvante.

Como alternativa a esse processo se buscou o modo de preparo do aglutinante em dispersão, testando-se inicialmente a formulação com aglutinante a 7,5 % (m/m) em dispersão. Essa formulação apresentou melhoria nas características de formulação e de processo avaliada por meio da friabilidade de 12 % e rendimento de 48 %. Semelhantes resultados foram apresentados para a formulação com aglutinante a 9,0 e 6,0 % (m/m) em dispersão.

Para se realizar uma avaliação acurada das modificações nas características tecnológicas dos granulados e nas propriedades do processo de granulação advindas das alterações do modo de preparo da metilcelulose, assim como a influência da concentração do aglutinante nos granulados e a interação entre esses dois fatores se realizou um modelo fatorial 2² com uma repetição. Os granulados obtidos nesta fase foram denominados e preparados conforme consta na tabela 5.5.1.

Tabela 5.5.1. Condições de obtenção dos granulados co-processados de adjuvantes na fase de otimização

Granulado	Granulado co-processado de adjuvantes	
	Concentração do aglutinante (%; m/m)	Modo de uso do aglutinante
GRADJ6%DIS	6	Dispersão
GRADJ6%EXT	6	Extemporâneo
GRADJ9%DIS	9	Dispersão
GRADJ9%EXT	9	Extemporâneo

As concentrações utilizadas foram escolhidas por ter se obtido em estudos prévios granulados com adequadas características tecnológicas, bem como devido à limitação da concentração do aglutinante, haja vista o seu efeito deletério na

desintegração, dissolução e a difícil homogeneização no malaxador da dispersão coloidal no modo *ex situ* em concentrações maiores de aglutinante.

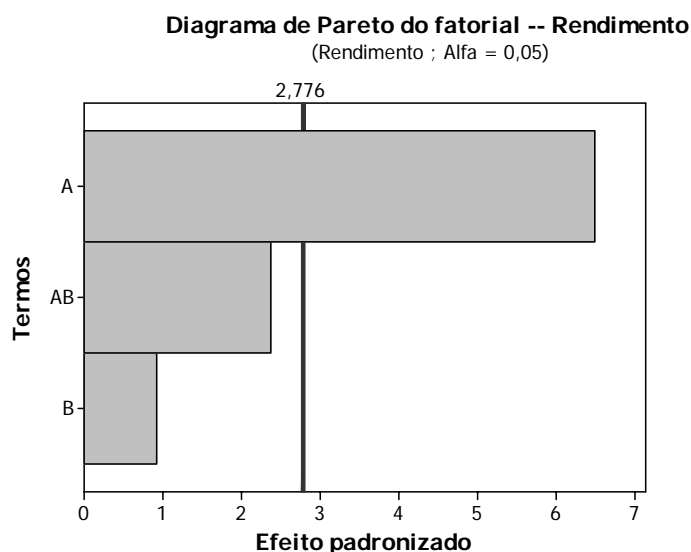


Figura 5.5.1. Diagrama de pareto do fatorial da variável de saída rendimento. Fator A = modo de preparo; Fator B = concentração do aglutinante e Interação AB = modo de preparo e concentração do aglutinante

O resultado do fatorial, para melhor visualização, foi reproduzido na forma de diagrama de pareto para as variáveis de saída rendimento e friabilidade (figuras 5.5.1 e 5.5.2).

A figura 5.5.1 mostra a importância do modo de preparo no aumento do rendimento do processo. Tal fato reside na total dispersão coloidal do aglutinante no modo *ex situ* o que favorece uma maior interação e coesão com os outros adjuvantes, aumentando assim a formação de granulados, em contrapartida à diminuição de grânulos inferiores a 250 μm .

Quando analisados individualmente, o GRADJ9%DIS apresentou os melhores resultados em rendimento, bem como menor variabilidade, entretanto, ainda aquém do desejável (tabela 5.5.2). O rendimento baixo dos granulados se deve tanto à formação de finos quanto à produção de granulados com dimensões superiores ao tamis de 850 μm . Deve-se salientar que embora não faça parte do cálculo do rendimento, o modo dispersão apresentou clara superioridade na porção superior ao tamis de corte (850 μm), evidenciando a maior coesão e eficiência deste método já apregoada pela

literatura (VOIGT, 2005). Optou-se por não cominuir os granulados com maior diâmetro, pois poderia alterar a morfologia entre outras características.

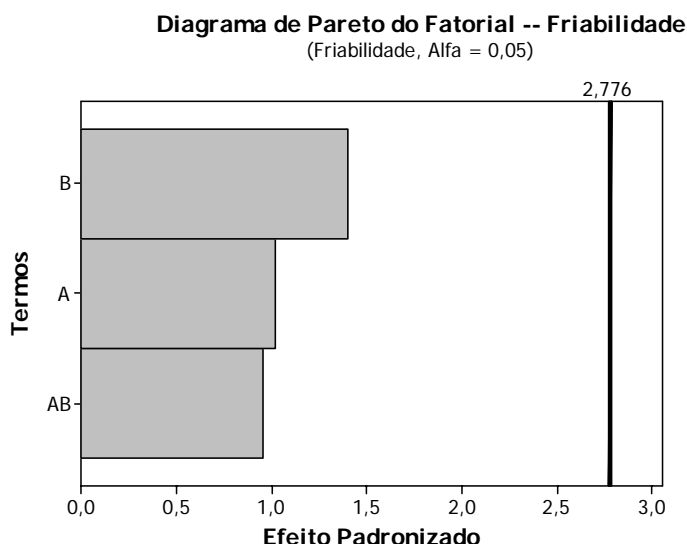


Figura 5.5.2. Diagrama de pareto do fatorial da variável de saída friabilidade. Fator A = modo de preparo; Fator B = concentração do aglutinante e Interação AB = modo de preparo e concentração do aglutinante

Tabela 5.5.2. Tabela sinóptica do rendimento e da friabilidade dos granulados co-processados de adjuvantes apresentados nas formulações contendo metilcelulose como aglutinante

Formulação	GRADJ6%DIS	GRADJ9%DIS	GRADJ6%EXT	GRADJ9%EXT
Parâmetro	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)
Rendimento (%)	46,68 ^a ± 4,17 (8,94)	54,66 ^{ab} ± 0,79 (1,45)	36,73 ^{ac} ± 5,05 (13,7)	33,25 ^{ac} ± 1,71 (5,14)
Friabilidade (%)	18,41 ^a ± 10,16 (55,19)	7,93 ^a ± 0,75 (9,40)	18,71 ^a ± 7,20 (38,48)	17,74 ^a ± 1,54 (8,68)

Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si, pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$)

Quanto à friabilidade nenhum fator ou interação dos mesmos foi estatisticamente significativo (tabela 5.5.2). Apesar disso, nota-se que a concentração do aglutinante possui maior influência na friabilidade e que a variação dos resultados possui menor valor para os granulados com 9 % (m/m) de aglutinante. As formulações com maior concentração de aglutinante apresentaram menor desvio padrão relativo, podendo atribuir a estas maior reprodutibilidade. A menor friabilidade do

GRADJ9%DISP, como era esperada, foi mascarada pelo elevado desvio padrão dos GRADJ6%DISP e GRADJ6%EXT que impossibilitaram uma adequada avaliação estatística. A granulometria sofreu um processo de controle a fim de diminuir a influência desta variável e tornando os resultados mais comparáveis, sendo uma alternativa interessante, principalmente, para grânulos com densidade similar.

O modo extemporâneo possui um conhecido viés que é a incompleta dispersão do aglutinante, bem como a formação, durante o processo, de locais com alta viscosidade na mistura que se opõem à distribuição homogênea do aglutinante (KHANKARI e HONTZ, 1997). Tais problemas podem conferir ao granulado uma menor resistência mecânica, menor rendimento, bem como maior variabilidade nas características tecnológicas do mesmo.

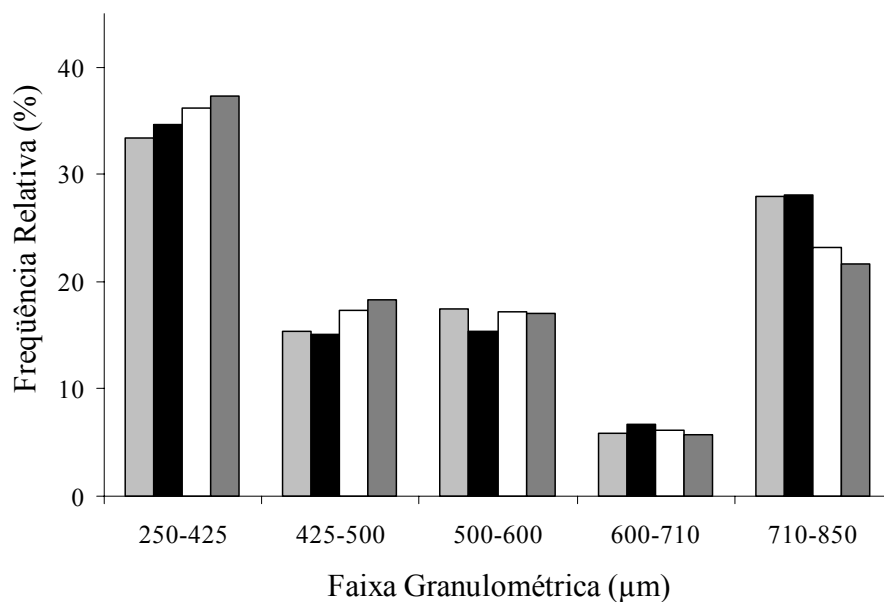


Figura 5.5.3. Histograma da distribuição granulométrica dos granulados co-processados de adjuvantes com o aglutinante metilcelulose na concentração ponderal de 6% extemporâneo (■), 9% extemporâneo (■), 6% em dispersão (□) e 9% em dispersão (■).

A figura 5.5.3 mostra o histograma de distribuição dos GRADJ, anteriormente à seleção, evidenciando a semelhança de granulometria entre as formulações. A moda da distribuição granulométrica está no intervalo 250 – 425 μm, muito embora, tenda a uma distribuição bimodal no método de preparo *in situ*. A mediana obtida pela

equação da regressão linear com a transformação em logaritmo neperiano da frequência acumulada inversa, e o desvio da distribuição (razão 84 %/50 %) foram às variáveis de saída avaliadas para granulometria. Ambas variáveis apresentaram significância apenas para o fator modo de preparo. O modo de preparo em dispersão influenciou na obtenção de granulados com menor mediana e desvio da distribuição.

A análise de variância simples para os granulados demonstrou igualdade entre estes, tanto na mediana quanto na distribuição, exceção feita para a mediana do GRADJ9%DIS e GRADJ6%EXT. O desvio da distribuição granulométrica, indicador da curtose, aponta para baixa dispersão dos dados (WELLS, 1988), sendo apresentado na tabela 5.5.3.

Tabela 5.5.3. Resultados da análise granulométrica do delineamento fatorial

Análise	Fator Significativo	6%	9%	6%	9%
		Dispersão	Dispersão	Extempor.	Extempor.
		Média (dpr %)			
Mediana	Modo de preparo	545,24 ^{ab} (3,57)	520,22 ^a (0,37)	563,51 ^b (1,15)	558,90 ^{ab} (0,05)
Desvio da distribuição	Modo de preparo	1,43 ^a (3,35)	1,38 ^a (0,59)	1,46 ^a (1,30)	1,47 ^a (1,16)

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$).

A presença de uma distribuição não gaussiana juntamente com ampla faixa granulométrica, impossibilitou a obtenção de um bom estimador de medida de tendência central, como já observado para o GRPSA. As regressões apresentaram coeficiente de correlação com amplitude de 0,990 - 0,996 com ANOVA significativa ($\alpha = 0,05$), homocedasticidade, ausência de valores aberrantes (*outliers*), aderência à normalidade e exclusão do zero da inclinação nos limites de confiança. A seguir, como já realizado para os PSA e GRPSA, comparou-se a inclinação e o intercepto de retas (CHARNET e col., 1999). Todas as retas foram estatisticamente iguais quanto ao intercepto e a inclinação corroborando com a avaliação gráfica da figura 5.5.3 (Teste *t* de *Student* com $\alpha/2 = 0,05$).

As fotomicrografias por microscopia eletrônica de varredura mostram a semelhança morfológica e dimensional dos granulados. A estrutura fibrilar dos constituintes dos granulados se deve a predominância de celulose microcristalina no grânulo e pode ter contribuído para sua resistência mecânica por mecanismo de interchaveamento e entrelaçamento (*interlocking*). A fotomicrografia (e) da figura 5.5.4 mostra a coloração original dos granulados. A fotomicrografia (f) mostra a estrutura dos granulados em detalhe sendo representativa dos demais granulados.

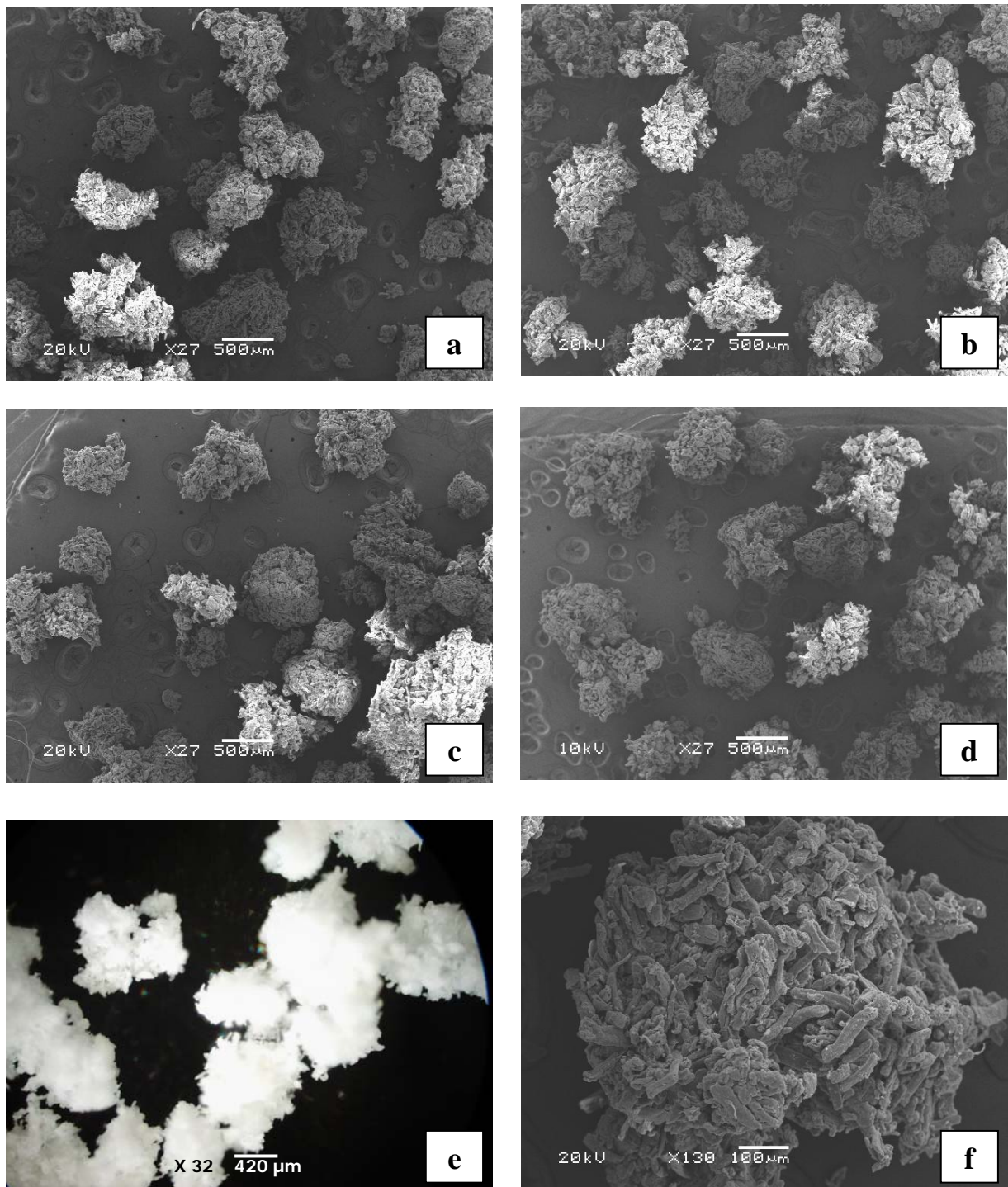


Figura 5.5.4. Fotomicrografias dos granulados co-processados de adjuvante com aumento de 27X (a) GRADJ6%EXT, (b) GRADJ9%EXT, (c) GRADJ6%DIS, (d) GRADJ9%DIS; com aumento de 32X (e) GRADJ9% DIS, e aumento de 130X (f) GRADJ6%EXT.

Os outros parâmetros analisados no fatorial e na ANOVA dos GRADJ estão resumidos na tabela 5.5.4.

A quantia de água empregada, mantida a ± 4 °C, foi pesada, no entanto, devido ao prolongado tempo de homogeneização (cerca de 1 h) se observou gradual perda por evaporação por meio da análise de perda por dessecação (PPD) em balança de infravermelho. Para melhor caracterização da umidade requerida para o granulado, a técnica de PPD foi eleita. Observa-se que a umidade presente na massa úmida pode ser usada indiretamente para auxiliar na avaliação do ponto de massa (direcionando futuras granulações) já que apresentou pequeno desvio padrão relativo entre as repetições. Tal fato atesta a homogeneidade da umidade.

Tabela 5.5.4. Caracterização tecnológica dos granulados.

Análise	Fator Significativo	6%	9%	6%	9%
		Dispersão	Dispersão	Extempor.	Extempor.
		Média \pm s (dpr %)			
Quantia de água (g)	Não avaliado	80,01	72,53	67,94	68
Umidade da massa úmida (%)	Modo de preparo	35,43 ^{ab} \pm 0,47 (1,33)	34,58 ^a \pm 0,12 (0,34)	33,13 ^{abc} \pm 0,66 (1,99)	32,04 ^{ac} \pm 1,04 (3,25)
Umidade do GRADJ (%)	Sem significância	7,31 ^a \pm 0,58 (7,93)	7,28 ^a \pm 1,11 (15,24)	7,82 ^a \pm 0,50 (6,39)	7,92 ^a \pm 1,67 (20,93)
Densidade bruta (g/ml)	Modo de preparo	0,283 ^a \pm 0,026 (9,18)	0,288 ^a \pm 0,023 (7,86)	0,238 ^a \pm 0,007 (2,94)	0,244 ^a \pm 0,014 (5,73)
Densidade comp. (g/ml)	Sem significância	0,333 ^a \pm 0,001 (0,30)	0,329 ^a \pm 0,016 (4,86)	0,286 ^a \pm 0,044 (15,38)	0,289 ^a \pm 0,007 (2,42)
Fator de Hausner	Não avaliado	1,181 ^a \pm 0,164 (13,89)	1,148 ^a \pm 0,087 (7,57)	1,201 ^a \pm 0,070 (5,85)	1,183 ^a \pm 0,113 (9,53)
Índice de compress. (%)	Não avaliado	14,46 ^a \pm 11,89 (82,19)	12,55 ^a \pm 6,61 (52,66)	15,01 ^a \pm 8,03 (53,49)	15,99 ^a \pm 5,59 (35,00)
Índice de densificação (%)	Não avaliado	4,14 ^a \pm 3,74 (84,85)	3,49 ^a \pm 0,97 (27,90)	7,31 ^a \pm 4,57 (62,53)	5,46 ^a \pm 2,79 (51,16)
Fluxo (g/s)	Modo de preparo	5,20 ^a \pm 0,40 (7,69)	5,13 ^a \pm 0,02 (0,39)	4,06 ^a \pm 0,36 (8,87)	4,11 ^a \pm 0,49 (11,92)
Fluxo (ml/s)	Sem significância	16,74 ^a \pm 1,76 (10,51)	16,19 ^a \pm 0,94 (5,81)	16,50 ^a \pm 0,32 (1,94)	16,30 ^a \pm 0,07 (0,43)

Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). FES = fator estatisticamente significativo.

A massa úmida foi passada em tamis de 1 mm e teve sua passagem dificultada nas formulações extemporâneas, assim como maior aderência às ferramentas do malaxador. Do ponto de vista prático, a superioridade do modo em dispersão é patente.

Embora não se tenha realizado uma curva de dessecção ao longo do processo de secagem em estufa de ar circulante, constatou-se que no tempo de 12 horas sob temperatura de cerca de 40 °C se obteve equilíbrio hídrico entre o ambiente e os granulados, não havendo significativa perda de umidade após este período.

O fator modo de preparo foi estatisticamente significativo na influência sobre a umidade da massa úmida. A umidade da massa úmida no modo extemporâneo foi inferior ao modo dispersão, contudo, no granulado pós-secagem, o modo de preparo não causou diferença de umidade, demonstrando uma maior dessecção nestes. As formulações dos granulados, quando individualmente avaliadas pela análise de variância, não demonstraram diferença quanto à umidade final dos granulados.

A densidade bruta foi influenciada pelo modo de preparo sendo esta superior no modo de dispersão. Isto se deve a provável maior coesão advinda de uma melhor distribuição do aglutinante, bem como a maior proporção de aglutinantes em dispersão coloidal (estado ativo). A densidade compactada não apresentou significância para os fatores.

Quando empregada ANOVA para avaliação dos resultados dos ensaios densitométricos das formulações, não se observou diferença estatística entre as formulações, novamente atribuída à alta amplitude de variação entre os lotes. Apesar disso, algumas considerações sobre as maiores densidades bruta e compactada dos GRADJ DIS devem ser tecidas. Devido à elevada variabilidade entre as repetições, o teste de ANOVA foi usado para os resultados dentro de cada repetição. Evidenciaram-se, a partir desta análise, maiores valores de densidades bruta e compactada nos GRADJ6%DIS e GRADJ9%DIS na primeira e na segunda repetição de cada formulação, não havendo diferenças causadas pela alteração das concentrações do aglutinante. Este resultado se reveste de importância visto que uma maior aproximação destes valores de densidade apresentados com os dos GRPSA diminui a

probabilidade de segregação entre os mesmos, muito embora, a diferença quanto a esse parâmetro ainda seja elevada e este seja pouco influente na segregação.

Os dados referentes à estabilidade de empacotamento, fator de Hausner e índices de compressibilidade e de densificação apontam para boa estabilidade de empacotamento para os granulados provenientes das formulações, independentemente da técnica de adição do aglutinante, apesar da baixa reprodutibilidade dos resultados (WELLS, 2005). A partir desses dados se podem inferir boas propriedades reológicas aos GRADJ obtidos.

Os valores de fluxo não apresentaram distinção quando expressos nas unidades de volume por tempo, tanto na análise fatorial quanto na ANOVA. O fator modo de preparo foi significativo para o fluxo, expresso pela razão entre massa e tempo, principalmente, devido à maior densidade dos GRADJ obtidos pelo modo de dispersão. Refletindo sobre o processo de compressão e, mais especificamente, o processo de alimentação, conclui-se facilmente que as unidades de fluxo (massa por tempo) são as que possuem maior valor preditivo. Apesar disso, a expressão dos resultados como volume por tempo é independente da densidade, possibilitando eliminar esse fator e vislumbrar de maneira mais clara a influência de outras variáveis na reologia, tais como granulometria, morfologia, atrito e coesão entre os granulados. Sendo assim, o fluxo (volume por tempo) corrobora com os dados apresentados pela análise granulométrica, fator de Hausner e índice de compressibilidade.

A grande variação entre os lotes fez com que o teste de ANOVA não conseguisse discriminar os granulados quanto a sua reologia. Analisando separadamente as repetições, nota-se que o fluxo, expresso em massa por tempo, é notadamente superior para os GRADJ6%DIS e GRADJ9%DIS. O desvio padrão relativo, indicativo da regularidade do fluxo e precisão da técnica, foi inferior a 5 % nos intralotes, apontando para adequabilidade destes dois aspectos.

Sumarizando os resultados obtidos, destaca-se o maior rendimento, densidade bruta, umidade na massa úmida e maior fluxo no modo de preparo por dispersão do aglutinante. Fator capital para decisão do melhor granulado foi o maior rendimento e a

menor friabilidade apresentado pelo GRADJ9%DIS, sem olvidar as outras variáveis supracitadas. Ainda assim, para uma definitiva escolha é fundamental conhecer os atributos dos granulados concedidos aos comprimidos finais.

O aglutinante que é adicionado ao granulado cumpre dupla função, seu primeiro papel consiste na promoção da resistência mecânica dos grânulos até o momento da compressão quando, então, é co-responsável pela manutenção da forma compactada (ALDERBORN e WIKBERG, 1996).

Apesar da imprevisibilidade apresentada, inclusive em proporções diversas de misturas binárias simples (FELL, 1996), algumas relações têm sido mostradas entre proporções de componentes e parâmetros compressionais (ILKKA e PARONEN, 1993; RIEPMA e col., 1990). Sendo assim, para conhecimento dos componentes partícipes dos comprimidos finais, bem como para avaliação comparativa entre eles se efetuou análise do produto de suas compressões. Utilizou-se apenas a primeira das repetições das quatro formulações.

A compressão foi realizada em máquina de comprimir instrumentalizada e qualificada (HILGERT, 2009) que possibilita a medidas das forças compressionais, força de ejeção e curva força tempo. A pesagem foi feita individualmente a fim de haver maior reprodutibilidade. A rotação escolhida foi de 5 rpm, suficiente para que houvesse a estabilização da velocidade, com fácil manipulação do programa computacional de avaliação e melhor observação dos dados.

Os comprimidos não apresentaram *capping*, laminação ou aderência aos punções mostrando adequabilidade dos mesmos. A força de ejeção ficou sob controle ao longo do processo não necessitando de reaplicação do estearato de magnésio. Os dados referentes à caracterização dos comprimidos estão sumarizados na tabela 5.5.5.

Os comprimidos, embora tenham sido obtidos a partir de pesagem individual demonstraram um importante acréscimo de massa o que se pode atribuir, em parte, a longa exposição dos mesmos ao ambiente antes de serem adequadamente armazenados. Devido à logística do processo, utilizou-se balança com precisão de ± 1

mg na pesagem dos granulados e para melhor caracterização dos comprimidos se empregou balança analítica (precisão de $\pm 0,1$ mg) o que pode ser, parcialmente, responsabilizada pela variação. Tal peculiaridade apresentada pelos granulados levou a avaliar a higroscopicidade do granulado escolhido (item 7.5). Apesar desta justificável preocupação, o peso médio dos comprimidos e sua variação estão dentro da faixa de aceitação preconizada pela farmacopéia brasileira.

Tabela 5.5.5. Características tecnológicas dos comprimidos dos diferentes granulados.

Granulado	6%DISP	9%DISP	6%EXT	9%EXT
Análise	Média \pm s	Média \pm s	Média \pm s	Média \pm s
Peso médio (mg)	255,3 ^{ab} \pm 2,4	253,6 ^{ab} \pm 7,9	252,6 ^b \pm 3,2	256,1 ^a \pm 3,1
Volume (mm ³)	227,8 ^a \pm 1,6	220,3 ^b \pm 2,0	222,1 ^{bc} \pm 3,2	223,1 ^c \pm 4,2
Densidade (mg/cm ³)	1,12 ^a \pm 0,01	1,16 ^b \pm 0,01	1,14 ^b \pm 0,02	1,15 ^b \pm 0,02
Porosidade (%)	25,6 ^a \pm 0,7	22,8 ^b \pm 0,9	24,5 ^c \pm 1,5	23,3 ^b \pm 1,5
Pressão (N/mm ²)	53,9 ^a \pm 1,9	55,4 ^a \pm 2,1	52,4 ^b \pm 2,4	54,6 ^a \pm 1,5
Dureza (N)	57,1 ^a \pm 3,0	60,5 ^a \pm 5,2	60,89 ^a \pm 3,2	59,4 ^a \pm 3,4
Rt (N/mm ²)	1,063 ^b \pm 0,051	1,204 ^a \pm 0,084	1,209 ^a \pm 0,080	1,200 ^a \pm 0,066
ICs (%)	0,020 ^a \pm 0,001	0,022 ^b \pm 0,001	0,023 ^b \pm 0,001	0,022 ^b \pm 0,001
VR (%)	35,76 ^a \pm 0,43	35,37 ^{ab} \pm 0,54	35,90 ^{abc} \pm 0,92	36,12 ^{ac} \pm 1,21
Friabilidade (%)	0,24	0,24	0,16	0,28
Desintegração (s)	36,6 ^a \pm 1,5	53,1 ^b \pm 4,1	42,1 ^a \pm 2,1	55,1 ^b \pm 5,7

Médias seguidas de mesma letra, nas linhas, não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$). Dens. = Densidade aparente dos comprimidos; Rt = resistência à tensão; ICs = índice de coesão; VR = volume de recuperação.

Os comprimidos que apresentaram maior peso foram provenientes das formulações GRADJ9%EXT e GRADJ6%DISP, não se podendo, entretanto, tirar nenhuma conclusão prévia a respeito da influência da formulação e do processo. Embora os comprimidos de GRADJ advindos do modo extemporâneo tenham diferido entre si estatisticamente, do ponto de vista prático pouco valor pode ser dado.

A razão da massa pelo volume possibilita a obtenção da densidade que, em sistemas perfeitamente homogêneos (ex. líquidos), pode ser considerada uma propriedade intensiva. Apesar de não ser o caso, a densidade aparente permite uma comparação mais adequada entre os comprimidos (quanto comparada ao peso e ao volume), pois está relacionada com várias outras características fundamentais, tais como porosidade e indiretamente com a dureza, desintegração e friabilidade. A

densidade nos comprimidos se mostrou distinta apenas para o GRADJ6%DIS que, por sua vez, apresentou também a mais alta porosidade.

A pressão foi escolhida para que se obtivessem comprimidos com dureza entre 55 e 65 N. Tal dureza é a pretendida para os comprimidos finais obtidos a partir do complexo farmacêutico. Logo, com estes dados se pode ter um panorama mais realístico da influência dos GRADJ nas características gerais dos comprimidos finais, sobretudo, na desintegração. Apesar da menor pressão aplicada no GRADJ6%EXT, todos os comprimidos foram estatisticamente iguais quanto à dureza.

Ainda hoje, a maioria das análises à tensão radial é feita em comprimidos planos e facetados cuja fórmula é amplamente conhecida e aplicada (FELL e NEWTON, 1970), apesar da produção da indústria farmacêutica ser, mormente, de comprimidos biconvexos. A preferência por este formato se deve, principalmente, à melhor distribuição das forças compressionais, já descrita por Aulton e Tebby em 1975, por meio da análise da dureza com o indentador de Brinell ao longo da superfície do compacto. Outrossim, a superioridade dos punções côncavos, especialmente de curvatura normal, reside em maiores resistências mecânicas (PITT e col., 1989), bem como menor friabilidade, notadamente, nas bordas favorecendo a manipulação e transporte (VOIGT, 2005).

PITT e col. (1988 e 1989a) obtiveram uma equação baseada nas análises fotoelásticas que permitiram a derivação do valor de tensão radial para comprimidos com superfícies curvas. A fórmula foi verificada por comparar cargas necessárias para produzir a falha por tensão de espécimes de gesso com faces planas e convexas. Outros trabalhos foram realizados com diversos outros materiais, tais como ácido acetilsalicílico e celulose microcristalina PH102, demonstrando a confiabilidade do mesmo (NEWTON e col., 2000; PITT e col., 1989).

A expressão mostrou ser válida para valores de Cl/D (espessura do cilindro central pelo diâmetro) na faixa de 0,06 – 0,3 e para a razão da curvatura dos punções D/R (diâmetro do comprimido pelo raio da curvatura da face convexa) na faixa de 0 – 1,43 (PITT e col., 1988). Os punções empregados no presente trabalho possuem razão

de curvatura D/R de 1,0 e os comprimidos obtidos possuem Cl/D na faixa de 0,26 – 0,27. Para valores Cl/D superiores a 0,2; os estudos apontam que a resistência à tensão é independente da curvatura do punção. Assim sendo, a equação se ajusta plenamente ao escopo deste trabalho.

Os valores da resistência à tensão tornam patente a diferença entre os comprimidos de GRADJ6%DIS dos outros comprimidos. Muito embora, o teste de resistência à tensão seja, incontestavelmente, superior ao simples valor de dureza, pois leva em consideração as dimensões e o formato do compacto, não contempla na sua fórmula a pressão aplicada durante a compactação. O índice de coesão, entretanto, preenche essa lacuna por meio da razão entre a resistência à tensão e a pressão aplicada, possibilitando obter resultados completamente comparáveis. Novamente, os comprimidos provenientes do GRADJ6%EXT foram inferiores quanto a este parâmetro, atestando à menor coesibilidade do granulado. Este resultado não levou a maiores conclusões sobre o modo de preparo ou a concentração do aglutinante, uma vez que os comprimidos de GRADJ9%DIS apresentaram resultados estatisticamente iguais as demais formulações. Outrossim, apresentou apenas pequenas características distintas quando comparadas aos comprimidos de GRADJ6%EXT.

O volume de recuperação apresentou, novamente (item 3.5), valores dissonantes com os dados de porosidade, provavelmente, devido à inadequada medida da distância entre os punções. Os resultados apontaram para diferenças apenas entre os GRADJ9% no modo extemporâneo e dispersão, podendo ser consideradas, no entanto, irrisórias do ponto de vista tecnológico. A proximidade dos resultados confirma erro sistemático nas medidas, bem como comportamento de deformação elástica similar para os GRADJ.

O teste de resistência à abrasão e à queda demonstrou, para todos os comprimidos, comportamento apropriado. A friabilidade está envolvida com a porosidade, mais especificamente, com a distribuição dos poros ou da densidade. Tal fato tem sido comprovado pela tomografia computadorizada por raios-X dentre outras

técnicas (SINKA e col., 2009). Os comprimidos do GRADJ6%DIS e GRADJ9%DIS com porosidades distintas, no entanto, apresentaram mesma friabilidade.

Um dos testes mais importantes na avaliação de comprimidos, indubitavelmente, é o da determinação do tempo de desintegração. A relação 1:3 fase interna/fase externa de desintegrante torna essencial que a fase externa exerça uma influência positiva na desintegração dos comprimidos. Logo, os comprimidos obtidos a partir destes granulados devem necessariamente possuir rápida desintegração. A decisão final na escolha dos granulados foi embasada nas suas características tecnológicas anteriormente discutidas e na desintegração dos comprimidos, visto que nas outras características os comprimidos pouco divergiram.

O tempo de desintegração foi muito rápido em todos os comprimidos e, embora, se observem variações estatísticas atribuídas à concentração de metilcelulose entre eles, do ponto de vista pragmático, não há diferenças tecnológicas nos mesmos. Um adendo deve ser feito quanto à cedência dos componentes ativos. Embora a desintegração tenha apresentado bons resultados há que se ter prudência na inferência do seu desempenho quanto à disponibilização dos componentes ativos ao meio circundante.

Genericamente, os comprimidos apresentaram boas propriedades mecânicas e baixo tempo de desintegração. Sendo assim, os dados levam a crer que os GRADJ, independente do granulado eleito, concederão boas características aos comprimidos finais.

A escolha natural foi pelo GRADJ9%DIS, levando-se em conta principalmente o rendimento de processo e a friabilidade dos granulados.

Inicialmente, intentou-se fazer passagem de escala (*scale-up*) se dobrando a quantia de massa úmida a fim de acelerar o moroso processo. Embora estivesse dentro da capacidade volumétrica do equipamento, não foi possível completar a granulação por falta de torque deste. Sendo assim, prosseguiu-se com a dimensão de lote anteriormente utilizada.

Os rendimentos dos seis lotes apresentaram ampla dispersão nos seus valores (Figura 5.5.5). A média dos valores foi de 49,9 % e o desvio padrão relativo foi de 13,5 %. Tal variação provém, dentre outros fatores, do uso da força manual para passagem da massa úmida pelo tamis. A umidade da massa úmida, outro fator crucial na granulação, variou estatisticamente entre os lotes pelo teste de ANOVA. A média dos lotes para umidade foi de $33,94 \pm 1,47$ (% m/m). O desvio padrão relativo intralote ($< 3,6$ %) aponta para adequada mistura e distribuição da umidade.

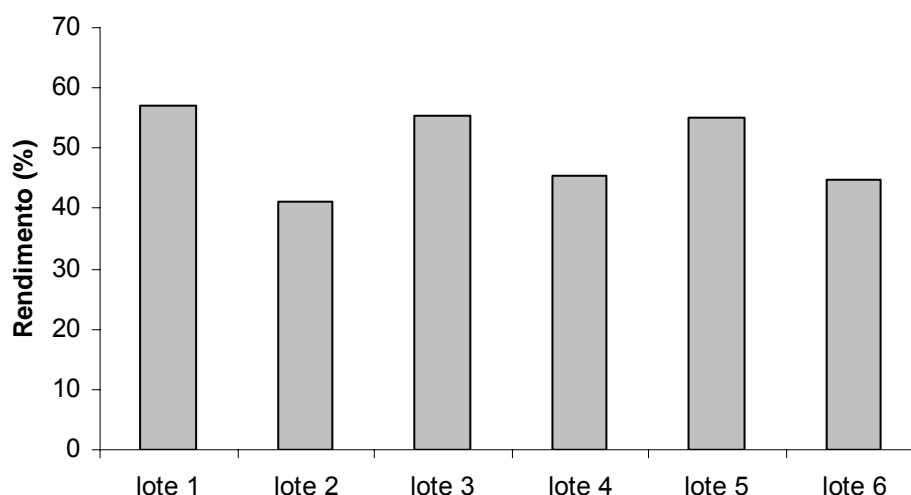


Figura 5.5.5. Rendimento dos lotes dos GRADJ9%DIS.

Aventou-se a hipótese da variação na umidade pudesse estar ocasionando, parcialmente, a variação no rendimento. Utilizou-se a correlação entre ambas variáveis e se obteve o coeficiente de Pearson de 0,902 que indica muito forte correlação entre as mesmas (tabela 5.5.6). Acrescentaram-se os dados dos dois lotes obtidos da fase de otimização, com objetivo de avaliar o possível acaso destes resultados. Novamente o coeficiente de Pearson calculado, de 0,904, atestou a existência de correlação muito forte (CALLEGARI-JACQUES, 2003). Sendo assim, fez-se necessário avaliar as variáveis por regressão linear (tabela 5.5.7).

A regressão aplicada demonstrou que 81,8 % da variação observada no rendimento dos lotes pode ser explicada pelo teor de umidade da massa úmida obtida em termobalança. A inclinação demonstra que a cada 1 % de umidade que é acrescida

na massa úmida dentro da faixa de trabalho (32,0 – 35,6 %) o rendimento aumenta em cerca de 4,57 %. Tal fato denota a elevada sensibilidade da presente formulação em relação à umidade. Cabe ressaltar a homocedasticidade, normalidade e ausência de *outlier* dos dados.

Tabela 5.5.6. Dados da análise da variância da regressão linear da relação entre umidade e rendimento dos lotes de GRADJ9%DIS

Causa de Variação	gl	SQ	MQ	F _{calculado}	p
regressão linear	1	216,20	216,20	26,98*	0,002026
Resíduo	6	48,08	8,01		
Total	7	264,28			

* significativo para $\alpha = 0,05$; F_{crítico} = 5,99;

Tabela 5.5.7. Dados da análise de regressão linear da relação entre umidade e rendimento dos lotes de GRADJ9%DIS

Parâmetro	Coefficiente \pm s	t _{calculado}	t _{0,05 (n-2)}	P*
Intersecção (a)	-104,76 \pm 30,01	-3,48	2,45	0,0129
Inclinação (b)	4,57 \pm 0,88	5,19	2,45	0,0020

*P = nível mínimo de significância

Após o procedimento de secagem, os granulados foram avaliados quanto à perda por dessecação e à distribuição granulométrica. Os granulados apresentaram umidade residual nos lotes de $7,61 \pm 0,81$ (% m/m). A elevada umidade, resultante de uma difícil dessorção, pode ser atribuída à umidade do complexo a ser granulado que já possuía valor elevado (6,86 %). A umidade elevada, principalmente, da celulose microcristalina, não despertou maiores atenções inicialmente, visto que estava abaixo de 8 %, conforme a especificação farmacopéica (THE UNITED, 2004) e sofreria posteriormente processo de granulação por via úmida. Além disso, a influência deste fator já havia sido criteriosamente caracterizada por MORAES (2007).

Couto (2005) mostrou o efeito sinérgico do amidoglicolato de sódio com a celulose microcristalina, em granulados co-processados, sobre a sorção de umidade, apresentando maior sorção do que o descrito na literatura. Embora este mesmo granulado não tenha apresentado problemas na dessorção, conforme Couto, este não havia sofrido um processo prévio de elevada sorção, que poderia alterar suas características (histerese). Similar sinergismo pode estar ocorrendo na dessorção de granulados submetidos previamente a elevado teor de umidade. O GRADJ9%DIS,

além disso, possui alta concentração de aglutinante o que dificulta ainda mais a dessorção. Para maior esclarecimento, realizou-se um estudo aprofundado sobre a avaliação da higroscopicidade deste e de outros granulados (item 7.5).

Com a finalidade de evitar o acréscimo de umidade, o GRADJ9%DIS foi armazenado em dessecador com gel de sílica. Durante o armazenamento em pote fechado, ocorreu dessorção e o granulado, por fim, apresentou umidade de $5,47 \pm 0,15$ (% m/m).

Tendo em mente obter um parâmetro de comparação, mais do que encontrar um bom estimador de medida de tendência central, calculou-se a mediana para cada lote a partir das curvas de distribuição granulométrica em função do logaritmo natural da frequência acumulada inversa percentual. Utilizando-se regressão linear se obteve uma equação de primeiro grau para cada lote. Com esta equação foi possível encontrar o percentil 50 % e 84 %. A média das medianas dos lotes foi de 527,93 μm com 3,01 % de desvio padrão relativo. A razão do percentil 84 % pela mediana permitiu avaliar o desvio padrão da distribuição que foi, em média, de 1,39. Esse último dado demonstra que os granulados possuem pequena dispersão granulométrica (WELLS, 1988).

As regressões apresentaram coeficiente de correlação com amplitude de 0,9924 - 0,9916 com ANOVA significativa ($\alpha = 0,05$), homocedasticidade, ausência de *outlier*, aderência à normalidade e exclusão do zero na inclinação dos limites de confiança. Além disso, comparou-se a inclinação e o intercepto de retas (CHARNET e col., 1999). Todas as seis retas geradas apresentaram interceptos estatisticamente iguais e paralelismo (Teste *t* de *Student* com $\alpha/2 = 0,05$). Por meio destes resultados se pode concluir que, embora a umidade tenha afetado o rendimento, não alterou, sensivelmente, sua distribuição granulométrica.

A partir da análise granulométrica do GRPSA40 e GRPSA80 se pode padronizar a distribuição granulométrica do GRADJ40 e GRADJ80 respectivamente. A seguir, a resistência mecânica foi caracterizada por meio da friabilidade. A porcentagem de perda material foi de 14,25 % havendo um acréscimo ao apresentado na fase de otimização, o que pode ser imputado à variabilidade inerente do teste. Outro

teste que se pretendeu realizar para melhor caracterização da resistência mecânica dos granulados foi à avaliação da “dureza real” com indentador de Vicker. Tal teste não pode ser empreendido devido à elevada porosidade do grânulo que impediu a discriminação da indentação em microscópio.

Após padronização granulométrica, os granulados foram novamente caracterizados, apresentando as especificações sumarizadas na tabela 5.5.8.

Tabela 5.5.8. Caracterização dos granulados co-processados e padronizados de adjuvantes

Granulado	GRADJ40	GRADJ80
Análise	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)
Densidade bruta (g/ml)	0,238 ^a ± 0,010 ^a (4,28)	0,255 ^a ± 0,003 ^a (1,48)
Densidade compactada (g/ml)	0,275 ^a ± 0,011 ^a (3,81)	0,294 ^a ± 0,013 ^a (4,50)
Fator de Hausner	1,153 ^a ± 0,015 ^a (1,358)	1,152 ^a ± 0,042 ^a (3,65)
Índice de compressibilidade (%)	13,26 ^a ± 1,17 ^a (8,86)	13,10 ^a ± 3,22 ^a (24,60)
Índice de densificação (ml)	2,745 ^a ± 1,381 ^a (50,28)	6,34 ^a ± 3,11 ^a (49,07)
Fluxo (g/s)	4,68 ^a ± 0,11 ^a (2,36)	4,39 ^b ± 0,09 ^a (2,17)
Fluxo (ml/s)	16,35 ^a ± 0,45 ^a (2,74)	16,55 ^a ± 0,30 ^a (1,82)
Difração a laser		
Média do diâmetro (µm)	643,42	645,71
Mediana (µm)	583,4	658,81
B.E.T.		
Área superficial MP (m ² /g)	9,861	9,510
Área superficial SP (m ² /g)	5,83	7,22
Fator C	3,328	6,671

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha = 0,05$) presumindo variâncias equivalentes. Desvios padrão seguidos pela mesma letra, nas linhas, não possuem variâncias que diferem pelo teste F ($\alpha = 0,05$). MP = *Multipoint*. SP = *Single Point*.

A análise densitométrica demonstrou que os GRADJ, a despeito da pequena diferença granulométrica, apresentam mesmo perfil de densidade. Como os granulados anteriormente produzidos, os GRADJ mostraram boa estabilidade de empacotamento, renunciando boas propriedades reológicas. A sensível diferença entre as densidades do GRADJ e GRPSA se deve, particularmente, ao método de granulação empregado.

Quanto à capacidade de movimentação, os resultados foram indistintos quando expressos na relação de volume por tempo, mas apresentaram diferença estatística para relação massa por tempo. Tal fato poderia ser atribuído novamente à densidade, porém

o GRADJ40, que possui maior fluxo, apresenta menor densidade. De qualquer forma, está pequena diferença pouca repercussão deverá ter.

Análise do tamanho particular dos GRADJ por difração a laser demonstrou relativa proximidade entre a mediana e média, principalmente no GRADJ80, o que atesta normalidade da distribuição. Os valores claramente inferiores para as duas medidas de tendência central dos GRADJ quando equiparadas as dos GRPSA, na mesma análise, confirmam a discussão no item 4.5 quanto às variações inerentes entre os métodos de avaliação granulométrica. A expressão dos resultados da tamisação (ponderal) e da análise por difração a laser (sinais de difração/número de partículas) explica boa parte dessa diferença. A resistência mecânica do GRADJ também pode favorecer uma fragmentação deste na etapa de homogeneização (agitação por pás e/ou sonicação) no óleo de silicone.

A área superficial específica, como era previsto, apresentou semelhante resultado pelo método *Multipoint*, sendo levemente superior para o GRADJ40 devido à maior proporção ponderal de granulados com menores dimensões. Os resultados divergentes para a área superficial específica pelo método de *Single Point* podem ser explicados pelos baixos valores do fator C. Estes tornam inadequado o método *Single Point* para a mensuração da área visto que o intercepto da regressão linear não pode ser negligenciado (NEWMAN, 1995; METZ, 1997). Quando comparados os resultados pelo método *Multipoint* entre os GRADJ e os GRPSA correspondentes, estes mostram proximidade nos resultados, corroborando com os dados da calibração por tamisação já que igualmente levam em consideração a massa dos grânulos.

5.6 CONCLUSÕES

- A distribuição granulométrica obtida na faixa de interesse foi claramente distinta do GRPSA, apresentando moda na menor faixa granulométrica.
- Os GRADJ obtidos apresentaram boas características tecnológicas, apesar da menor resistência mecânica e menor densidade quando comparados com o GRPSA advindos dos dois diferentes processos de granulação empregados.

- A partir de diversas formulações e por meio de um desenho fatorial foi possível encontrar no GRADJ com 9 % de metilcelulose em dispersão o mais adequado granulado para dar prosseguimento ao trabalho.
- Todos os comprimidos advindos dos granulados co-processados de adjuvante apresentaram boas características tecnológicas que, provavelmente, serão reverberadas nas características finais dos comprimidos.

5.7 REFERÊNCIAS

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

ALDERBORN, G.; WIKBERG, M. Granule properties. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 12, p. 323-373.

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

AULTON, M.E.; TEBBY, H.G. Hardness distributions over tablet faces with different curvatures. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27, Suppl. 4P, 1975.

CALLEGARI-JACQUES, S.M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2003. Cap. 27, p. 90.

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

CARSTENSEN, J.T. Wet granulation. In: **Advanced Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 2001. Cap. 21, p. 353-373.

CHARNET, R.; FREIRE, A.D.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de modelos de regressão linear com aplicações**. Campinas: Unicamp, 1999.

COUTO, A.G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Granulação. **Caderno de Farmácia**, v. 16, n. 1, p. 13-20, 2000.

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade da matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

EUROPEAN PHARMACOPEIA. 3. amtliche Deutsche Ausgabe. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1997. 1777p.

FARBER, L.; TARDOS, G.I.; MICHAELS, J.N. Evolution and structure of drying material bridges of pharmaceutical excipients: studies on a microscope slide. **Chemical Engineering Science**, v. 58, p. 4515-4525, 2003.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 400p.

FELL, J.T.; NEWTON, J.M. Determination of the tensile strength of tablets by the diametral-compression test. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, n. 5, p. 688-691, 1970.

FELL, J.T. Compaction Properties of Binary Mixtures. In: ALDERBORN, G; NYSTRÔM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996, Cap. 15, p. 501-516.

HAUSNER, H.H. Friction conditions in a mass of metal powder. **International Journal of Powder Metallurgy**, v. 3, n. 4, p. 7-13, 1967.

HILGERT, R.N. **Qualificação do desempenho e validação do processo de obtenção de comprimidos por compressão direta em escala piloto**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2009.

HOLM, P. High Shear Mixer Granulators. In: PARIKH, D.M. (Ed.). **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**. New York: Marcel Dekker, 1997. Cap. 7, p. 151 – 204.

ILKKA, J.; PARONEN, P. Prediction of the compression behaviour of powder mixtures by the Heckel equation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 94, n. 1-3, p. 181-187, 1993.

IVENSON, S.M.; LITSTER, J.D.; HAPGOOD, K.; ENNIS, J.B. Nucleation, growth and breakage phenomena in agitated wet granulation processes: a review. **Powder Technology**, v. 117, p. 3-39, 2001.

KHANKARI, R.K.; HONTZ, J. Binders and Solvents. In: PARIKH, D.M. (Ed.). **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**. New York: Marcel Dekker, 1997. Cap. 4, p. 59-74.

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

METZ, F. The surface area of magnesium stearate: an example for a complex analysis task. In: MÜLLER, R.H.; MEHNERT, W. (ED.). **Particle and Surface Characterization Methods**. Stuttgart: Medpharm Scientific, 1997. Cap.13, p. 209-213.

MORAES, R.H. **Avaliação do comportamento de flavonas e flavonóis frente à celulose microcristalina em estado sólido.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

NEWMAN, A.W. Micromeritics. In: BRITTAIN, H.G. (Ed.). **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids.** New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 9, p. 253-280.

NEWTON, J.M.; HARIRIAN, I.; PODCZECK, F. The influence of punch curvature on the mechanical properties of compacted powders. **Powder Technology**, v. 107, p. 79-83, 2000.

PARIKH, D.M.; BONCK, J.A.; MOGAVERO, M. Batch fluid bed granulation. In: PARIKH, D.M. (Ed.). **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology.** New York: Marcel Dekker, 1997. Cap. 9, p. 277-302.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; RICHARDSON, R.; STANLEY, P. The material tensile strength of convex-faced Aspirin tablets. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 41, p. 289-292, 1989.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; STANLEY, P. Tensile fracture of doubly-convex cylindrical discs under diametral loading. **Journal of Materials Science**, v. 23, n. 8, p. 2723-2728, 1988.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; STANLEY, P. Stress distributions in doubly convex cylindrical discs under diametral loading. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 22, p. 1114-1127, 1989a.

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

RIEPMA, K.A.; LERK, C.F.; DE BOER, A.H.; BOLHUIS, G.K.; KUSSENDRAGER, K.D. Consolidation and compaction of powder mixtures. I. Binary mixtures of same particle size fractions of different types of crystalline lactose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 66, p. 47-52, 1990.

RITSCHER, W.A.; BAUER-BRANDL, A. **Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung.** 2. Aufl. Aulendorf: ECV, 2002.

RUDNIC, E.M.; SCHWARTZ, J.B. Oral solid dosage forms. In: HENDRICKSON, R.C. e col. (Ed.). **Remington: The Science and Practice of Pharmacy.** Philadelphia, Lippincott Williams e Wilkins, 2005. Cap. 45, p. 889-928.

SINKA, I.C.; MOTAZEDIAN, F.; COCKS, A.C.F.; PITT, K.G. The effect of processing parameters on pharmaceutical tablet properties. **Powder Technology**, v. 189, n. 2, p. 276-284, 2009.

SPANIOL, B. **Comparação do comportamento compressional de granulado contendo produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. entre máquinas de**

comprimir alternativa e rotativa. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2007.

SUMMERS, M.; AULTON, M. Granulação. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 25, p. 369-383.

TARDOS, G.I.; KHAN, M.I.; MORT, P.R. Critical parameters and limiting conditions in binder granulation of fine powders. **Powder Technology**, v. 94, p. 245-258, 1997.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 27. rev. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 2004.

TWITCHELL, A. Mistura. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 13, p. 192-207.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf**, 10., vollst. überab. Aufl., Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2005.

WELLS, J. I. **Pharmaceutical Preformulation: the Physicochemical Properties of Drug Substances.** London: Ellis Horwood, 1988.

WELLS, J. I. Pré-formulação farmacêutica. In: AULTON, M. E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 8, p 124-148.

6 CAPÍTULO 5: PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPRIMIDOS ADVINDOS DOS PRODUTOS SECOS POR ASPERSÃO PSA40 E PSA80

6.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

A via oral é a forma de administração de fármacos mais comumente utilizada devido à simplicidade, segurança e comodidade. Dentre as formas farmacêuticas de administração oral, são os comprimidos as de mais amplo emprego. Os comprimidos são uma forma farmacêutica monolítica sólida com formas e dimensões definidas. Além das vantagens inerentes das formas sólidas, os comprimidos justificam sua popularidade por meio do relativo módico custo, possibilidade de produção em ampla escala, precisão de dosificação e elegância, assim como facilidade no acondicionamento, identificação e manipulação (ALDERBORN, 2005; VILA JATO, 2001; RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002).

A predominância no mercado farmacêutico desta forma farmacêutica sólida junto com a imperativa necessidade de produção de fitoterápicos com maior valor tecnológico agregado e constância na qualidade torna natural a produção de comprimidos a partir de extratos padronizados de plantas medicinais. Freitas (2007), baseado nos dados de *IMS Health* entre os anos de 2003-2006, ordenou os 20 medicamentos fitoterápicos com maior venda por faturamento e por unidade. Dos medicamentos com maior venda por faturamento 14 possuem, atualmente, na apresentação única ou opcional a forma farmacêutica sólida comprimido¹. A grande maioria destes comprimidos é revestido objetivando à melhora das características organolépticas e maior proteção.

Inicialmente o controle de qualidade era restrito à matéria-prima e/ou produto acabado, entretanto, nas últimas décadas assumiu um maior dinamismo, baseados nas premissas da garantia de qualidade, passando a controlar as diversas etapas de produção (NUNAN e col., 2001). Este procedimento possibilita antever pontos críticos no sistema e, assim, prevenir a ocorrência de desvios de qualidade, resultando em menor dispêndio de pecúnia e de tempo.

¹ Análise complementar realizada pelo autor da dissertação em 2009.

O sistema de qualidade total de um produto farmacêutico permite vislumbrar de maneira holística a adequabilidade de todos os procedimentos integrantes do processo, bem como avaliar a sensibilidade dos controles em apontar desvios de qualidade em etapas iniciais da produção (PETROVICK, 2009). Sendo assim, para um conhecimento amplo das limitações dos processos e das formulações empregadas faz se necessário realizar atividades de validação contemplando, entre outros aspectos, a resposta a variações deliberadas em pontos capitais do processo como, por exemplo, na compressão, a influência da velocidade de rotação de máquina de comprimir, assim como os métodos de controle de qualidade (ICH, 2008).

6.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Comparar e caracterizar tecnologicamente os comprimidos, contendo dois diferentes extratos secos por aspensão, obtidos em máquina rotativa instrumentalizada, bem como verificar os parâmetros ajustáveis do equipamento que influenciam estes.

6.3 REVISÃO DO TEMA

A despeito da imensa produção científica no que tange à compressão de formulações cujo constituinte ativo consiste em moléculas sintéticas ou fitofármacos, a literatura científica apresenta um considerável acervo quanto à compressão de extratos vegetais secos (PLAIZIER-VERCAMMEN e col., 1991; VENNAT e col., 1993; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995; RENOUX e col., 1996; DIAZ e col., 1997; ROCKSLOH e col., 1999; JEKÖ e col., 1999; LINDEN e col., 2000; PALMA e col., 2002; ONUNKWO e col., 2004, ENDALE e col., 2004; SOARES e col., 2005; COUTO, 2005; DE SOUZA e col., 2006; SPANIOL e col., 2009). Alguns dos mais importantes trabalhos nesta área são a seguir brevemente descritos e comentados.

Plaizier-Vercammen e col. (1991) empregaram produto seco por aspensão de *Equisetum arvense* com proporção ponderal de 36 % para produção de comprimidos. Objetivo do trabalho consistia em avaliar a influência de adjuvantes em diversas formulações para compressão direta. A compressão foi realizada em máquina de

comprimir alternativa instrumentalizada. Inicialmente, empregando Tablettose[®] na concentração 59 % (m/m) observaram alta variação no peso médio dos comprimidos, atribuídos à segregação devida à heterogeneidade granulométrica do complexo farmacêutico. Esse resultado foi confirmado por espectro de infravermelho. Desta maneira, a Tablettose[®] foi substituída por diferentes celuloses microcristalinas na presença ou não de Emcompress[®] em quantidades equiponderais. Na ausência de Emcompress[®], os comprimidos advindos das diferentes celuloses não apresentaram distinção evidente. Embora a presença de Emcompress[®] tenha acarretado num aumento de friabilidade nos comprimidos, a formulação com Avicel[®] PH101 foi menos sensível. De modo geral, estas formulações resultaram em comprimidos com boas propriedades, notadamente uniformidade de peso, mesmo em baixas forças compressionais.

Vennat e col. (1993) desenvolveram comprimidos com 20 % (m/m) de extrato seco de *Hamamelis virginiana* em 21 diferentes formulações. Avaliou-se a diferença entre os diversos desintegrantes de amido ou seus derivados na presença de diluentes (lactose fast flo[®] e Avicel PH101[®]) e lubrificante (estearato de magnésio e talco). Após estudo reológico e seleção de adjuvantes, os complexos farmacêuticos foram submetidos à compressão direta em máquina alternativa. As formulações foram selecionadas a partir das características dos comprimidos quanto à uniformidade de peso, dureza, friabilidade e desintegração. Apesar das boas características físicas dos comprimidos, as formulações com o amidoglicolato de sódio apresentaram os menores tempos de desintegração. Concentrações similares foram empregadas para o amido natural (desintegrante) e o amidoglicolato de sódio (superdesintegrante) o que torna os resultados óbvios.

González Ortega e Schmidt (1995) obtiveram extratos secos por *spray drying* de *Passiflora incarnata* L. usando, separadamente, os adjuvantes Gelita-Sol-P (derivado de gelatina hidrolisada) e hidróxi-apatita (fosfato de cálcio). Embora os rendimentos dos produtos secos tenham sido elevados e equivalentes, o extrato seco com hidróxi-apatita apresentou menor umidade residual, maior diâmetro, maior densidade e indicativos de melhor características reológicas. Foi também avaliado o

comportamento compressional destes dois produtos secos, bem como o efeito de três diferentes diluentes na formulação (Avicel[®] PH101, Avicel[®] PH200 e Cellactose[®]). Os comprimidos foram produzidos por compressão direta em máquina rotativa instrumentalizada. O produto seco por aspensão com Gelita-Sol-P só pode empregar como diluente o Avicel PH101, pois as formulações com os outros adjuvantes apresentaram forte tendência de aderência aos punções e segregação, oriunda das diferenças granulométricas e morfológicas entre os constituintes dos complexos farmacêuticos. Ainda assim, esta formulação apresentou elevado tempo de desintegração. As formulações do produto seco com hidróxi-apatita confirmaram a prévia avaliação, demonstrando menor variação de peso médio, ausência de segregação (nos três diluentes) e menor tempo de desintegração. Dentre os diluentes empregados, a Avicel PH101 apresentou comprimidos com as melhores características tecnológicas haja vista a sua maior comprimibilidade e efeito desintegrante.

Diaz e col. (1997) utilizaram extrato seco de *Plantago lanceolata* que foi granulado por via úmida com dispersão em acetona/isopropanol de Eudragit RS em várias concentrações. As boas propriedades reológicas e a plasticidade compressional dos granulados resultantes do processo de granulação possibilitaram a produção de comprimidos com adequadas propriedades mecânicas em máquina de comprimir alternativa. Seis tipos de comprimidos foram produzidos resultantes das formulações e das duas forças de compressão. A cedência destes comprimidos evidenciou que a liberação do extrato seco pode ser modificada pela proporção do polímero, no entanto, a presença constante do efeito *burst* também parece ser polímero-dependente. A ausência de completa dissolução em meio ácido foi atribuída à elevada instabilidade das substâncias ativas do extrato (DIAZ e col., 1997).

Comprimidos revestidos contendo extrato seco de *Cassia angustifolia* foram desenvolvidos a partir de sete formulações de filmes poliméricos a fim de diminuir a sensibilidade à umidade e a higroscopicidade. Os comprimidos produzidos por compressão direta foram caracterizados e avaliados quanto à estabilidade sob umidade de 70 e 90 %. As formulações de filme que apresentaram a melhor estabilidade foram com filmes hidrofóbicos (JEKO e col., 1999).

Rocksloh e col. (1999) otimizaram a resistência ao esmagamento radial e tempo de desintegração de comprimidos com alto teor de extrato seco vegetal (93-94 %, m/m) por redes neurais artificiais. O emprego das redes neurais se deveu ao baixo poder preditivo do método convencional de análise multivariada. A alta complexidade e o elevado volume de experimentos resultaram, entretanto, em poucas conclusões devido à ausência de variáveis de saída fundamentais para caracterização completa dos comprimidos (ex. dissolução e friabilidade).

Renoux e col. (1996) descreveram melhoria na produção industrial por compressão direta de formulação com 50 % (m/m) de extrato seco de origem vegetal com baixa higroscopicidade. O estudo inicial de pré-formulação selecionou os adjuvantes para compressão direta (Avicel[®] PH101, Emcompress[®] e Lactose E.F.C.[®]), bem como deslizantes e lubrificantes para produção de comprimidos aceitáveis. A formulação com Avicel PH101 não foi selecionada devido ao baixo fluxo, baixa densidade bruta e a formação de comprimidos finos. Igualmente, a formulação com Emcompress foi preterida devido à necessidade de alta força compressional e de desintegrante para produção de comprimidos viáveis. Além da Lactose E.F.C. selecionada e do diluente lactose, as misturas dos deslizantes Aerosil 200[®] e Levilite[®] e dos lubrificantes Compritol[®] 888 e estearato de magnésio foram utilizadas na otimização da formulação. Para tal empregou-se o fatorial com dois níveis (concentração) com três fatores (diluente, deslizante e lubrificante) sem repetição. A variável de saída foi obtida a partir de três subcritérios que são o fluxo, compactabilidade ($V_{10} - V_{500}$) e o coeficiente de variação do peso médio dos comprimidos que foram ponderados para obtenção de idêntica contribuição. Apesar dos bons resultados apresentados pelas formulações, se pode observar diferenças e selecionar a melhor. O desenho experimental revelou que a influência da lactose E.F.C. foi marcante e em menor extensão o estearato de magnésio. A escolha da variável de saída que, ao contrário do escrito pelos autores, não leva em consideração o comportamento compressional e a maneira exótica na qual está foi compilada, bem como a inexistência de repetição no desenho fatorial diminuem a relevância dos resultados e abrangência das conclusões.

Linden e col. (2000) desenvolveram formulação de comprimidos com alta proporção (cerca de 60 %, m/m) de produto seco por aspersão de folhas de *Passiflora edulis* por compressão direta. Foi utilizada máquina de comprimir alternativa. A fim de produzir comprimidos com adequada dureza e desintegração, empregou-se a metodologia de superfície de resposta para otimizar a concentração do deslizante (Aerosil® 200) e desintegrante (Ac-Di-Sol®) na formulação. Os modelos de desenho de composto central para as variáveis de saída dureza e desintegração foram validados. Os resultados mostraram que o Aerosil 200 teve efeito positivo sobre a dureza dos comprimidos, enquanto a proporção de Ac-Di-Sol determinou um efeito linear na diminuição do tempo de desintegração e afetou a dureza principalmente de forma dependente da concentração do Aerosil 200. Empregando a sobreposição dos gráficos de contorno foi possível encontrar os valores ótimos de 7 min de desintegração e 85 N de força resistência ao esmagamento radial com as formulações otimizadas.

Comprimidos de extrato seco de *Peumus boldus* foram produzidos por compressão direta em prensa hidráulica provida de manômetro. Após a verificação que o extrato seco apresentava problemas reológicos, baixa densidade e instabilidade de empacotamento, três formulações foram empregadas a fim de melhorar essas propriedades. Mantendo-se constante o percentual ponderal de extrato seco vegetal (42,5 %) e estearato de magnésio (1,5 %), as formulações diferiram quanto à presença dos materiais de enchimento Avicel® PH101, lactose α -monoidratada e Emcompress®. Cada formulação incluiu dois destes adjuvantes de forma equiponderal. As formulações mantiveram indícios da permanência dos problemas originais do extrato seco, muito embora, atenuados pelos adjuvantes. Os menores tempos de cedência e a maior comprimibilidade foram apresentados nas formulações que tinham celulose microcristalina. Devido à ausência de medida direta do fluxo e da variabilidade de peso médio dos comprimidos pelas condições processuais empregadas, possíveis problemas de preenchimento de máquinas alternativas ou rotativas não puderam ser vislumbrados. A escolha da formulação e da força compressional igualmente não considerou a dissolução dos comprimidos visto que este teste essencial não foi descrito no artigo (PALMA e col., 2002).

Onunkwo e col. (2004) produziram comprimidos a partir de extrato seco e de pó obtido diretamente da cominuição de sementes de *Garcinia kola*. Empregou-se granulação via úmida por desagregação para o pó moído com quatro tipos de aglutinantes em diferentes concentrações. Os comprimidos produzidos em máquina de comprimir Manesty excêntrica foram caracterizados quando as suas dimensões, peso médio, dureza, friabilidade, dissolução e uniformidade de conteúdo. As características dos comprimidos foram dependentes dos aglutinantes e concentração utilizada. Apesar do elevado número de ensaios para melhor caracterização dos comprimidos, o estudo apresenta um grande número de vieses tanto na porção analítica quanto tecnológica. O autor justifica a forma farmacêutica sólida de comprimidos na precisão da dosagem e padronização, no entanto, baseia boa parte do seu trabalho e toda a sua discussão no emprego de pó moído das sementes o que prejudica de veras a credibilidade do estudo. Outrossim, os comprimidos das diferentes formulações apresentaram grandes diferenças de peso médio o que prejudica a comparação direta entre as formulações. Os dados de dissolução dos comprimidos do extrato e uniformidade de conteúdo de todos os comprimidos produzidos não foram apresentados.

Endale e col. (2004) após a produção de extratos secos vegetais de sementes de *Glinus lotoides* com diversas proporções de metanol/água, diferentes métodos de secagem (liofilização e estufa com vácuo) e purificação, caracterizaram os extratos quanto as suas propriedades físicas. Os dados mostraram indícios de pobre reologia e instabilidade de empacotamento nos extratos secos sem prévia purificação, devido à baixa granulometria e morfologia irregular. A compressão dos extratos secos das soluções extrativas brutas foi procedida em máquina de comprimir alternativa instrumentalizada. Um estudo preliminar de comprimibilidade foi realizado nos extratos e mostrou uma tendência destes chegarem a um platô acima da força de compressão de 17 kN. O extrato bruto mais apolar apresentou maior comprimibilidade sendo esta atribuída à maior concentração de gordura e óleos.

Em trabalho com formulação com alto de teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* e celulose microcristalina como material de enchimento, Soares e col. (2003) avaliaram a influência da velocidade e da força de compressão sobre as

variáveis de saída dureza, tempo de desintegração e friabilidade. Para tal fim, um desenho fatorial do tipo 2^2 sem replicações foi adicionado de 5 pontos centrais e 4 pontos estrelas, resultando num Desenho de Composto Central. Os comprimidos foram obtidos por compressão direta em máquina alternativa instrumentalizada. A velocidade não influenciou na resistência ao esmagamento radial ou na friabilidade dos comprimidos, embora tenha atuado de forma coadjuvante na desintegração, diminuindo o tempo. Para todas as variáveis de resposta a força de compressão foi o fator predominante, em parte, devido à ampla faixa de força de compressão empregada.

A partir de formulação com granulado de PSA de *Maytenus ilicifolia* obtido por via seca (71,23 %, m/m), avaliou-se a concentração de Aerosil[®] 200 e Ac-Di-Sol[®] na dureza, friabilidade e desintegração dos comprimidos. Com tal propósito foi desenvolvido um desenho de composto central com três pontos centrais e 4 pontos estrelas. Avicel PH101 foi o material de enchimento empregado. Todos os modelos foram validados e apresentaram alto coeficiente de determinação. A concentração de Aerosil influenciou isoladamente e de modo negativo a dureza, enquanto foi o fator preponderante na friabilidade. Comprimidos com os menores valores de friabilidade foram obtidos quando Aerosil e Ac-Di-Sol estavam em baixas concentrações. A desintegração foi, logicamente, influenciada principalmente pelo desintegrante, mas também sofreu efeito negativo da concentração de Aerosil. Independente das formulações, todos os comprimidos apresentaram boas características mecânicas e rápida desintegração. Utilizando a sobreposição dos gráficos de contorno obtidos dos três modelos foi possível obter a formulação otimizada dos comprimidos. A possibilidade de segregação poderia ter sido avaliada por meio da uniformidade de conteúdo, bem como a capacidade de cedência dos comprimidos com a formulação otimizada (SOARES e col., 2005).

De Souza e col. produziram uma série de estudos de compressão de produto seco por aspersão de extrato de *Phyllanthus niruri* (2004, 2005, 2006 e 2007).

Avaliaram-se as formulações em estudo fatorial 2² cujos fatores investigados foram o tipo de desintegrante (croscarmelose sódica e amidoglicolato de sódio) e de material de enchimento (celulose microcristalina e fosfato de cálcio dibásico). A compressão direta foi realizada em máquina alternativa instrumentalizada. Os comprimidos com alto teor de PSA (70 %, m/m) nas formulações apresentaram baixa friabilidade e reduzido tempo de desintegração. O tipo de material de enchimento apresentou efeito predominante sobre a resistência à tensão enquanto que para a desintegração ambos os fatores foram significativos. A croscarmelose sódica juntamente com a celulose microcristalina foram selecionadas para o subsequente estudo por apresentarem respectivamente menor tempo de desintegração e maior dureza. Em estudo fatorial 2 x 3 sob as mesmas condições compressionais se produziram comprimidos em duas forças compressionais com três concentrações do desintegrante eleito. Apenas a força de compressão influenciou a resistência à tensão e a friabilidade dos comprimidos. A desintegração foi dependente da força de compressão e da concentração do desintegrante. Assim como em estudos anteriores, a ausência do estudo de dissolução pode comprometer a escolha da formulação e condições processuais (DE SOUZA e col., 2006).

Com objetivo de melhorar as propriedades reológicas, compressionais e diminuir a higroscopicidade do PSA de *Phyllanthus niruri*, De Souza e col. (2007) desenvolveram granulados de PSA por via úmida empregando como agente aglutinante Eudragit[®] E 100. A análise fatorial 2 x 3 foi realizada com os fatores força de compressão e concentração ponderal de Eudragit E. Os granulados obtidos foram caracterizados quanto à estabilidade de empacotamento, morfologia, análise granulométrica e análise do ácido gálico presente nos mesmos. A seguir a compressão se procedeu de maneira similar ao estudo anterior. A resistência à tensão dos comprimidos foi influenciada por ambas variáveis, muito embora, a força compressional seja claramente preponderante e a concentração do polímero tenha uma relação inversa. Tanto a força compressional quanto a concentração do Eudragit influenciaram a cedência do marcador. A ausência na formulação de desintegrante pode explicar, em parte, o lento processo de dissolução. A ausência da análise de

desintegração impossibilita a verificação se nesta consiste a etapa limitante da dissolução.

A otimização da formulação e do processo de produção de comprimidos com elevado teor de PSA de *Phyllanthus niruri* a partir de granulados obtidos por via seca também foi realizado por De Souza (2004). Os granulados foram produzidos a partir de briquetes produzidos em máquina alternativa com posterior granulação em moinho de rolos sulcados seguida de cominuição em granulador oscilatório. Estes granulados foram granulometricamente calibrados (0,75 – 0,25 mm) e constituíram de 71,43 % (m/m) da formulação. A fim de otimizar a formulação, desenho de composto central foi engendrado de modo a determinar a proporção ponderal de estearato de magnésio e croscarmelose sódica sobre as variáveis de resposta: resistência à tensão, friabilidade e desintegração. A resistência à tensão só foi influenciada pela concentração de estearato de magnésio, enquanto que a friabilidade não apresentou fator significativamente influente. Apesar do modelo de desintegração apresentar falta de ajuste, o coeficiente linear e quadrático do desintegrante apresentou significância.

Outro estudo realizado foi relativo ao revestimento com Eudragit E de comprimidos obtidos por compressão direta contendo 70 % de PSA de *Phyllanthus niruri* a fim de diminuir a sorção de umidade. Este objetivo foi apenas parcialmente alcançado, visto que a sorção inicial foi mais lenta nos comprimidos revestidos, no entanto, a partir do oitavo dia apresentaram sorções coincidentes. A dissolução foi rápida nos comprimidos com e sem revestimento, mesmo após a exposição à umidade (De Souza e col., 2005).

Couto (2005) realizou a compressão de complexo farmacêutico constituído de granulado com alto teor de PSA de *Phyllanthus niruri* na proporção ponderal de 92 %, granulado co-processado de adjuvantes e lubrificante, respectivamente, 7,92 e 0,08 %. As diferentes formulações variaram quanto o tipo e concentração dos desintegrantes presentes nos granulados co-processados. A compressão foi realizada em máquina de comprimir alternativa. Apesar da produção de comprimidos viáveis, estes apresentaram baixa dureza e alta friabilidade. A friabilidade e a dureza dos

comprimidos não apresentaram forte correlação, devido à influência também da resistência mecânica dos componentes originais da formulação sobre a friabilidade. Comparado aos comprimidos do controle que foram obtidos sem a presença de granulado co-processado, todos os comprimidos advindos das diversas formulações apresentaram significativa redução no seu tempo de desintegração. A presença de desintegrante também proporcionou aumento na velocidade de cedência, muito embora, diferenciada entre as formulações, caracterizando comprimidos de liberação imediata. Apesar de não ter se observado alteração no perfil cromatográfico por CCD, verificou-se redução do teor de flavonóides totais em formulações contendo croscarmelose e crospovidona, indicando possíveis interações dos marcadores com estes adjuvantes.

Spaniol e col. (2009), tendo como base o complexo farmacêutico de *Phyllanthus niruri* elaborado por Couto (2005), produziram comprimidos em máquina rotativa sob diversas velocidades de operação 15; 22,5 e 30 rpm. A fim de obter uma comparação entre as diferentes compressoras, igualmente foram produzidos comprimidos em máquina alternativa com forças de esmagamento radial de 40, 60 e 80 N. Punções com mesmas dimensões e formatos foram empregados nas duas máquinas de comprimir. Mantendo-se os mesmos ajustes iniciais, a velocidade de máquina rotativa não influenciou o peso médio dos comprimidos. Apesar disso, a maior velocidade redundou em diminuição da dureza e resistência à tensão dos comprimidos, provavelmente, devido ao comportamento visco-plástico do complexo farmacêutico. Em estudo preliminar, Spaniol (2007) verificou o comportamento predominantemente plástico no complexo farmacêutico empregado, pela aplicação da equação de Heckel no método *out of die*, o que explica a dependência do tempo de aplicação da força. Os comprimidos da máquina alternativa e rotativa mostraram ausência de sinais de laminação ou aderência a punções, bem como adequada friabilidade, desintegração e perfil de dissolução característico de rápida liberação. Por meio de tratamentos das imagens das faces superior e inferior dos comprimidos com auxílio de *software* ImajeJ foi possível atestar quantitativamente a ocorrência do fenômeno de percolação sendo mais evidente nos comprimidos oriundos da máquina

alternativa. De modo geral, o estudo demonstrou que a construção e operação das diferentes máquinas de comprimir influenciam o produto final.

O estudos a seguir embora se desviem do escopo desta revisão, cujo foco é compressão de fitoterápicos, são pertinentes na medida em que analisam de maneira aprofundada o efeito da velocidade de rotação nas características dos comprimidos.

Roberts e Rowe (1985) introduziram o índice SRS (*strain-rate sensitivity*) que foi calculado empregando a pressão média de deformação (P_y) de compressões com alta e baixa velocidade em simulador de compactação. Tal índice permite avaliar o grau de sensibilidade dos materiais sob a velocidade de rotação. Constatou-se que materiais plásticos possuem maiores SRS quando comparados a materiais fragmentáveis. Embora esse importante índice possa auxiliar na caracterização e escolha das formulações, a elevada diferença entre as velocidades alta e baixa pode prejudicar sua aplicabilidade prática.

Um modelo de sistema de alimentação foi desenhado para permitir uma simulação do processo de preenchimento da matriz de forma mais realística (WU e col., 2003). Esse sistema consiste de uma unidade de acionamento pneumático, um controlador de posição e um transdutor de deslocamento. Possibilita um variação na velocidade de alimentação de 0,033 – 1 m/s e um controle fino sobre sua aceleração. Com esse dispositivo podem ser criados ambientes artificiais (vácuo). Além disso, o modelo foi aprimorado incluindo um processo semelhante ao deslocamento descendente do punção inferior, o que favorece a verificação do efeito da sucção (JACKSON e col., 2007). A matriz possui paredes transparentes possibilitando a produção de vídeos com câmeras de alta velocidade de captação que permitem o acompanhamento do preenchimento e sua classificação qualitativa.

Observou-se com este equipamento que em baixas velocidades a matriz é completamente preenchida. Se a velocidade é, gradualmente, aumentada haverá uma velocidade na qual o preenchimento será incompleto. Surgiu, então, o parâmetro reológico “velocidade crítica” denominada por Wu e col. (2003) como a máxima velocidade em que a matriz está completamente preenchida. Esta medida de fluxo é

dependente das propriedades do material e da geometria do sistema (SINKA e col., 2009).

Utilizando esse parâmetro foi possível demonstrar a importância do movimento descendente do punção inferior no enchimento da matriz. Quando comparado ao punção estático houve acréscimo considerável na velocidade crítica. O experimento sob vácuo demonstrou que o efeito do punção móvel (sucção) pode ser apenas parcialmente explicado pelo vácuo (JACKSON e col., 2007; SINKA e col., 2009).

Os trabalhos desta revisão auxiliaram substancialmente no planejamento, execução e discussão de todo o trabalho.

6.4 PARTE EXPERIMENTAL

6.4.1 Materiais

Para a obtenção dos complexos farmacêuticos, utilizaram-se os granulados com o componente ativo, GRPSA40 e GRPSA80, bem como os granulados de fase externa GRADJ40 e GRADJ80 elaborados anteriormente (itens 4.4.3.1 e 5.4.3.5.2). O estearato de magnésio (Acros Organics, New Jersey/USA, Lote A0235781) foi empregado como lubrificante. O dodecilsulfato de sódio (90 % pureza, Synth, São Paulo/Brasil) foi empregado como tensoativo no meio de dissolução. Os solventes empregados para o sistema cromatográfico foram metanol (grau HPLC, J. T. Baker, Cidade do México/México), ácido ortofosfórico (Merck, Darmstadt/Alemanha), acetonitrila (grau HPLC, J. T. Baker, Cidade do México/México) e água ultrapura obtida em sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA). Para a dissolução dos comprimidos, quando especificado, foi usado etanol (96 % v/v, Nuclear, São Paulo/Brasil). Os padrões flavonoídicos utilizados foram luteolina (97 % pureza, Alfa Aesar, Ward Hill/EUA, lote 10054013) e quercetina (pró-análise, Sigma Aldrich, St. Louis/EUA, lote 90K1746).

6.4.2 Equipamentos², acessórios e correlatos

Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu, equipado com bomba LC-10AD, injetor automático SIL-10A e detector UV/Vis SPD-20 AV, controlado pelo programa CLASS LC-10;

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

Banho de ultra-som Ultra Cleaner 1400 A;

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

Coluna cromatográfica Phenomenex de aço inoxidável Synergi Polar-RP 4 µm, 150 x 4,6 mm d.i.;

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

Dissolutor Pharma Test tipo PTW S III;

Durômetro Schleuninger 2E;

Estufa de Secagem Biomatic 1305;

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

Forno para colunas de Clae Hot Column, Cromacon Ciola (CDTF/UFRGS)²;

Friabilômetro Roche J. Engelsmann, de acordo com Farmacopéia (1988);

Máquina de comprimir rotativa instrumentalizada Riva Piccola com punções côncavos de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm (CDTF/UFRGS)²;

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

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

Micrômetro digital Mitutoyo 0-25 mm/1”;

Microscópio eletrônico de varredura Jeol-JSM 6060 (CEM/UFRGS)²;

Misturador em Y Erweka acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

Pré-coluna cromatográfica Phenomenex (EUA) Gemini C18, 4 x 3 mm d.i.;

Purificador de água Milli-Q Plus Millipore (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

² O autor agradece às Unidades citadas pela gentil disponibilização dos equipamentos.

Software estatístico Minitab® versão 14;

Software para modelos matemáticos CurveExpert versão 1.37;

Software para processamento e análise de imagens ImageJ 1.38x (National Institute of Health, USA) disponível em www.rsweb.nih.gov/ij;

Termobalança Gehaka IV2000 com sistema de secagem por infravermelho;

Volúmetro de compactação J. Engelsmann (EUROPEAN, 1997).

6.4.3 Métodos

6.4.3.1 Produção do complexo farmacêutico

Obtiveram-se comprimidos em máquina de comprimir rotativa instrumentalizada, com base nos percentuais ponderais da fase interna (71,4 %) e da fase externa (28,6 %), como empregada por De Souza (2004). A escolha do desintegrante foi baseada nos dados obtidos por Couto (2005). O complexo farmacêutico foi constituído de GRPSA40 (CF40) ou GRPSA80 (CF80), como fase interna, e do granulado co-processado de adjuvantes (GRADJ) ajustado para a faixa granulométrica de 0,250 a 0,850 mm conforme a distribuição granulométrica do respectivo GRPSA, a fim de garantir a homogeneidade na etapa de mistura, adicionados de estearato de magnésio (0,5 %), como fase externa.

A mistura dos grânulos foi realizada em misturador em Y durante 3 minutos a 36 rpm, seguida da adição de estearato de magnésio com mais 5 minutos de mistura. Devido às diferenças entre a coloração dos granulados das fases interna e externa foi possível avaliar, visualmente, a homogeneidade da mistura.

6.4.3.2 Caracterização do complexo farmacêutico

6.4.3.2.1 Determinação da perda por dessecação

A determinação da perda por dessecação foi realizada conforme descrito no item 5.4.3.2.1.

6.4.3.2.2 A avaliação da densidade bruta e compactada (GUYOT e col., 1995, modificado), fator de Hausner, índice de compressibilidade e índice de densificação (HAUSNER, 1967; CARR, 1965; VOIGT, 2005)

Após determinação das densidades bruta e compactada, foram calculados os índices e o fator pelo procedimento descrito no item 5.4.3.3.7.

6.4.3.2.3 Determinação do fluxo discreto

Avaliou-se por meio do escoamento do material particulado em funil com avaliação por contagem em cronômetro do tempo total de passagem. As análises foram realizadas a partir de cerca de 50 ml de amostra, em triplicata, empregando-se funil de orifício de saída de 1 cm, ângulo interno do funil superior (40 °), diâmetro de carga do funil inferior (3 cm) e diâmetro de carga do funil superior (11 cm).

6.4.3.3 Produção dos comprimidos

Após testes prévios, decidiram-se os parâmetros de ajuste da máquina (nível 80 de penetração do punção superior) e se optou por não utilizar o distribuidor na alimentação nem a etapa de pré-compressão.

A máquina de comprimir foi ajustada para obtenção de comprimidos com massa de 250 mg ($\pm 12,5$ mg) e mesma dureza no modo JOG. Ambos os complexos farmacêuticos foram compactados em três velocidades de rotação diferentes (10, 20 e 30 rpm), no entanto, para a formulação CF80 foi acrescida mais uma velocidade (5 rpm) com a finalidade de avaliação da robustez da formulação nestas condições. O ajuste inicial foi mantido para cada formulação nas diferentes velocidades. Os comprimidos obtidos durante a sincronização do equipamento em cada rotação foram descartados.

Obteve-se uma apropriação variável, devido a limitações técnicas, das forças de compressão e de ejeção utilizadas durante o procedimento de compressão nas diferentes velocidades. Os comprimidos formados na velocidade 20 rpm foram os

escolhidos para a caracterização analítica e tecnológica completa, sendo, exclusivamente, empregados nos ensaios de uniformidade de conteúdo e de cedência.

6.4.3.4 Caracterização dos comprimidos

6.4.3.4.1 Determinação da aparência e das dimensões (THE UNITED, 2004; WAGNER e col., 1999; SPANIOL, 2007)

A aparência foi avaliada, visualmente, quanto à homogeneidade de coloração e textura da superfície. As dimensões foram medidas 24 h após a compressão por meio da mensuração em paquímetro digital da espessura total (h), diâmetro (d) e espessura nas bordas (h_b) dos comprimidos biconvexos. O volume aparente foi calculado conforme as equações apresentada no item 5.4.3.4.2.1.

A distribuição dos granulados de adjuvantes nas faces dos comprimidos foi avaliada por meio de imagens fotográficas. Para tal, os comprimidos foram colocados centralizados dentro de uma caixa cúbica com luminosidade constante e controlada (4 lâmpadas de 15 W, Empalux), a fim de manter as condições experimentais invariáveis entre as fotografias (RUPPENTHAL e col., 2007). A amostragem para cada rotação de ambos os CF foi de 6 comprimidos diferentes que tiveram as suas faces superior e inferior fotografadas com câmera digital posicionada a 12,5 cm de distância dos mesmos. As imagens obtidas foram tratadas e avaliadas por programa computacional. As características descritoras das faces dadas pelo *software* foram a área total que o GRADJ ocupou, número de partículas e as medidas de coloração por meio do padrão RGB e da escala cinza.

6.4.3.4.2 Determinação do peso médio (FARMACOPÉIA, 1988)

Realizou-se conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira IV.

6.4.3.4.3 Perda por dessecação (FARMACOPÉIA, 1988)

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

6.4.3.4.4 Determinação da densidade aparente (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002), cálculo da densidade real (COUTO, 2005), densidade relativa (RITSCHER e BAUER-BRANDL, 2002) e porosidade (MURAKAMI e col., 2001)

Estes testes seguiram o procedimento realizado nos itens 3.4.3.2.2 e 3.4.3.2.4
6.4.3.4.5. Determinação da dureza (FARMACOPÉIA, 1988) e da resistência à tensão radial (PITT, NEWTON, STANLEY, 1988)

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

O cálculo para a obtenção da resistência à tensão para comprimidos convexos seguiu a equação apresentada no item 5.4.3.4.2.5.

6.4.3.4.6 Determinação do perfil de friabilidade

Realizou-se perfil de friabilidade dos comprimidos em função do tempo na rotação de 20 rpm do friabilômetro. Os tempos empregados para análise foram 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15 min com subsequente pesagem dos comprimidos após a retirada do pó aderido por tamisação.

6.4.3.4.7 Determinação do tempo de desintegração (FARMACOPÉIA, 1988)

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

6.4.3.4.8 Uniformidade de conteúdo (FARMACOPÉIA, 1988)

Analisaram-se, individualmente, 10 comprimidos de cada formulação (CP40 e CP80). A determinação do conteúdo foi realizada por meio do doseamento dos flavonóides majoritários (marcadores) nos comprimidos, empregando-se metodologia validada (BICA e col., 2009)³ para cromatografia líquida de alta eficiência. As amostras de comprimidos foram cominuídas em gral com pistilo e posteriormente dissolvidas em balão de 100 ml de solução hidroalcoólica a 60 % e a 85 % para,

³BICA, V.C.; PIRAN, S.M.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. 2009. Manuscrito a ser submetido para publicação contido ao final do capítulo 8 item 9.8

respectivamente, os comprimidos de CF40 (CP40) e comprimidos de CF80 (CP80) com auxílio de sonicação. Para análise cromatográfica, 6,0 ml da solução foram diluídos para balão volumétrico de 20 ml com diluente metanol:ácido fosfórico a 0,1 % (1:1, v/v). Após filtradas (0,45 µm, HVHP), cada amostra foi injetada (20 µl) em triplicata.

Os resultados individuais foram expressos em porcentagem pela razão entre a concentração obtida para cada um dos flavonóides marcadores e a concentração teórica baseada na proporção ponderal de PSA contida nos comprimidos.

6.4.3.4.9 Ensaio de cedência (FARMACOPÉIA, 1988)

O ensaio para avaliação da liodisponibilidade foi realizado em dissolutor com amostragem de seis comprimidos de cada formulação. Empregou-se sistema de agitação do tipo pás, temperatura a 37 ± 1 °C, velocidade de rotação de 100 rpm e meio de dissolução constituído de 500 ml \pm 1 ml de água destilada com 1,5 % (m/v) de dodecilsulfato de sódio. Nos tempos de coleta (5, 10, 15, 20, 30 e 60 min) foram coletadas alíquotas de 3,0 ml que foram submetidas à filtração por membrana (0,45 µm, Millipore), e colocadas em *vials*. Para cada amostragem houve simultânea reposição do meio. As amostras foram analisadas em CLAE. Realizaram-se experimentos prévios para obtenção do meio de dissolução apropriado.

A liodisponibilidade dos CP40 e CP80 foi avaliada, comparativamente, empregando-se o fator de semelhança (f_2), bem como dados da cinética de dissolução para o cálculo do $t_{50\%}$ e da eficiência de dissolução (SHARGEL e col., 2004; BRASIL, 2004; MARCOLONGO, 2003). Outrossim, empregou-se a equação empírica descrita por Weibull adaptada para o processo de dissolução (LANGENBUCHER, 1972). Esta equação pode ser rearranjada e linearizada como representada na equação 6.1,

$$\log[-\ln(1-m)] = b \cdot \log(t - T_i) - \log a \text{ (eq. 6.1)}$$

onde, m é a fração acumulada dos flavonóides no tempo (t); T_i representa o *lag time*; b é o parâmetro da forma do perfil de dissolução (Beta) e a é o parâmetro de escala (gama). O modelo de Weibull linearizado foi empregado para comparação de retas

(CHARNET e col., 1999). Os parâmetros a e b possibilitam o cálculo do tempo de dissolução (T_d) que é o tempo no qual 63,2 % dos flavonóides foram liberados (COSTA e LOBO, 2001) por meio da equação 6.2:

$$T_d = a^{1/b} \text{ (eq. 6.2).}$$

6.4.3.4.10 Avaliação em microscopia eletrônica por varredura

Avaliaram-se as estruturas superficiais dos CP40 e CP80 obtidos na rotação 20 rpm, bem como a porção interna após fratura dos mesmos.

6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A uniformidade da mistura não pode ser avaliada quantitativamente devido à inexistência, naquele momento, de um método analítico que garantisse a recuperação dos flavonóides majoritários. Uma possibilidade aventada foi à utilização de programas de imagens para avaliação da homogeneidade de mistura, mas tal fato ficou impraticável devido à forte influência da sombra causada pelas superfícies irregulares dos granulados.

Sendo assim, apesar da subjetividade, determinou-se, visualmente, a homogeneidade de mistura e o tempo de alcance desta. Observou-se que logo no primeiro minuto de mistura ocorreu uma distribuição regular do GRADJ e que em tempos prolongados (> 15 min) principiava um processo de segregação do mesmo. Evitou-se, deste modo, um tempo de mistura prolongado, como o utilizado em trabalhos similares anteriores (DE SOUZA, 2004; COUTO, 2005; SPANIOL, 2007). A opção pelo tempo de 3 min dos componentes majoritários e mais 5 min na fase de lubrificação foi baseada na garantia de uma boa margem de segurança para a homogeneidade, intermediário entre a etapa inicial, na qual se observou um sistema heterogêneo, e o início de segregação do CF, com uma adequada distribuição do lubrificante.

Os complexos farmacêuticos foram caracterizados quanto às suas densidades e reologia. A tabela 6.5.1 sumariza os resultados.

Tabela 6.5.1. Caracterização tecnológica do Complexo Farmacêutico de PSA40 e PSA80

Amostra	CF40	CF40 Teórico	CF80	CF80 Teórico
Parâmetro	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)	Média ± s (dpr %)
Perda por dessecação (%)	3,93 ^a ± 0,15 (3,88)	4,97 ^b ± 0,21 (4,28)	3,30 ^c ± 0,17 (5,24)	4,17 ^a ± 0,14 (3,30)
Densidade bruta (g/ml)	0,379 ^a ± 0,016 (4,35)	0,418 ^b ± 0,001 (0,24)	0,391 ^{abc} ± 0,02 (4,78)	0,375 ^{ac} ± 0,01 (2,83)
Densidade comp. (g/ml)	0,409 ^a ± 0,006 (1,54)	0,438 ^b ± 0,001 (0,35)	0,417 ^{abc} ± 0,01 (3,71)	0,398 ^{ac} ± 0,01 (2,91)
Índice de compress. (%)	7,39 ^a ± 2,70 (36,64)	5,77 ^a ± 0,52 (9,05)	6,04 ^a ± 1,53 (25,40)	6,49 ^a ± 1,21 (18,67)
Fator de Hausner	1,080 ^a ± 0,032 (2,93)	1,064 ^a ± 0,006 (0,55)	1,064 ^a ± 0,017 (1,65)	1,072 ^a ± 0,015 (1,45)
Índice de densificação (ml)	2,32 ^a ± 0,89 (38,26)	1,96 ^a ± 0,06 (2,94)	1,03 ^a ± 0,01 (0,78)	2,92 ^a ± 1,44 (49,28)
Densidade real (g/cm ³)		1,605		1,559
Fluxo (g/s)	7,17 ^a ± 0,04 (0,62)	6,89 ^a ± 0,07 (1,00)	7,21 ^a ± 0,21 (2,92)	7,03 ^a ± 0,13 (1,94)
Fluxo (ml/s)	17,92 ^a ± 0,24 (1,35)	17,63 ^a ± 0,21 (1,17)	18,93 ^b ± 0,54 (2,84)	17,97 ^a ± 0,02 (0,14)

Médias seguidas de mesma letra, na mesma linha, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$). Comp. = Compactação. Compress. = Compressibilidade

O cálculo teórico para os CF foi baseado em resultados de análises anteriores, executadas em triplicata, para o GRADJ e GRPSA numa mistura perfeitamente homogênea com combinação aleatória das replicatas. A elevada diferença entre a umidade obtida e a teórica para o CF40 e CF80 se deve ao longo de tempo de armazenamento dos respectivos granulados em dessecador com gel de sílica o que favoreceu a dessorção de umidade.

Os resultados obtidos para as densidades bruta e compactada, especialmente do CF40, mostraram patente diferença em relação aos valores teóricos. Tal fato pode ter sido causado, parcialmente, pelos processos de mistura prévia e de lubrificação, que podem conduzir ao surgimento de atrações eletrostáticas e/ou a pequenas alterações morfológicas, bem como por uma diferença entre a adesão interparticular apresentada pelo CF e a coesão mostrada pelos granulados originais, o que ocasionaria em outro

patamar de empacotamento. O índice de compressibilidade, fator de Hausner e índice de densificação dos CF mostraram valores intermediários entre GRPSA e GRADJ como previsto. Outrossim, a semelhança de comportamento dos complexos farmacêuticos entre si ficou evidenciada na tabela 6.5.1. O percentual de variação entre a densidade real dos dois CF foi de 2,9 %, devido a diferenças intrínsecas do PSA, o que corrobora com a similitude apresentada por ambos.

Observa-se ainda na tabela 6.5.1 o acréscimo no valor de fluxo para o valor experimental, atribuível à presença do lubrificante, muito embora, apenas no CF80, nas unidades volume por tempo, tenha sido significativo do ponto de vista estatístico. O desvio padrão relativo baixo e os valores de fluxo corroboram com os dados densitométricos e apontam para boas propriedades reológicas.

Com o objetivo de determinar as condições de compressão, testou-se preliminarmente, a máquina de comprimir rotativa na velocidade de compressão de 20 rpm com a utilização de distribuidor no sistema de alimentação. Observou-se ampla variabilidade no peso médio dos comprimidos obtidos, o que poderia ter sido causado pela escolha da velocidade de giro do distribuidor. Assim, para avaliar a influência deste parâmetro, testaram-se velocidades de 20, 15 e 10 rpm, mantendo-se a velocidade de rotação da mesa da máquina. Houve variação de peso médio importante tanto entre as velocidades do distribuidor quanto dentro de cada velocidade. Optou-se, deste modo, por não utilizar o distribuidor.

A compressora foi ajustada inicialmente para obtenção de comprimidos de peso médio de 250 mg e dureza média de 65 N provenientes de CF40 e CF80. Esse ajuste foi realizado no modo JOG (5 rpm) com a finalidade de atenuar o dispêndio de complexo farmacêutico. Planejou-se a produção dos comprimidos em três rotações (10, 20 e 30 rpm), mas com o objetivo de avaliar melhor a robustez do CF80 acrescentou-se a rotação de 5 rpm.

Durante a produção dos comprimidos das duas formulações não foram observadas aderência aos punções, *capping* ou/e laminação. A força de ejeção permaneceu sob controle ao longo do processo. Embora os comprimidos

apresentassem sinais de escurecimento, principalmente para os CP40, esse não foi preponderante devido às baixas forças de compressão utilizadas. Todos os comprimidos nas diferentes velocidades mostraram sinais evidentes de segregação por percolação. As figuras 6.5.1 e 6.5.2, representativas dos comprimidos obtidos, ilustram essa divergência entre as faces. Igual fenômeno ocorreu com Spaniol (2007) que empregou o mesmo *software* de imagens para obter dados quantitativos e retirar a subjetividade da análise.

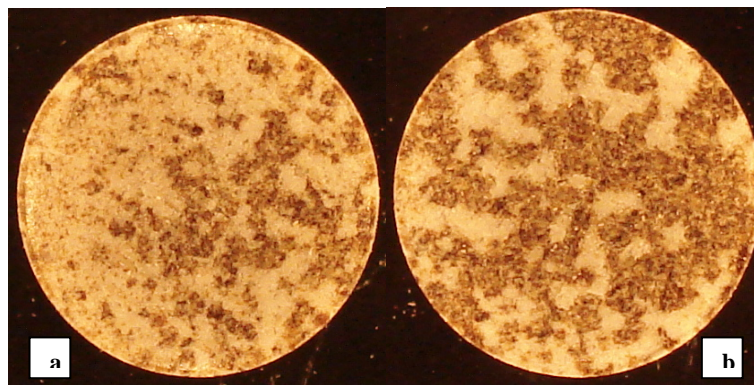


Figura 6.5.1. Aspectos da face inferior (a) e face superior (b) do mesmo comprimido de CP40 obtido na rotação 20 rpm.

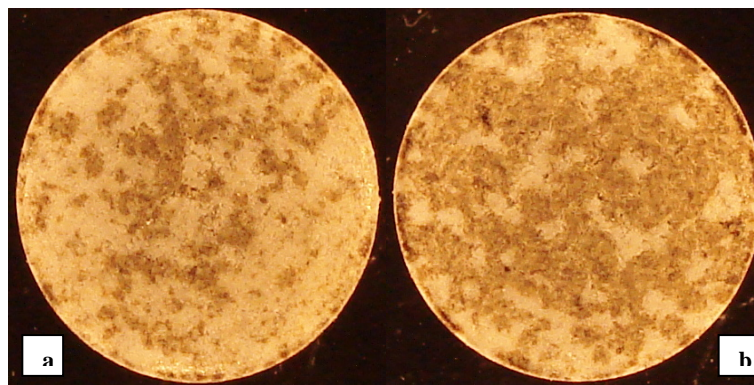


Figura 6.5.2. Aspectos da face inferior (a) e face superior (b) do mesmo comprimido de CP80 obtido na rotação 20 rpm

A partir do procedimento realizado por Spaniol e col. (2009), pode-se padronizar as condições de iluminação para a obtenção de fotografias, igualmente, com ajustes constantes na máquina digital. Após o tratamento da imagem para torná-la binária (preto e branco) dentro do *software* ImageJ, circunscreveu-se o comprimido a fim de delimitar o espaço para análise. Logo nas primeiras imagens se pode perceber a excessiva sobreposição dos GRADJ na face inferior e de GRPSA na face superior

impossibilitando uma contagem válida das partículas. Sendo assim, essa foi omitida, focando-se a análise da percolação na área total do GRADJ nas duas faces.

Spaniol e col. (2009) conseguiram obter a contagem de partículas de GRADJ nos comprimidos, no entanto, a proporção destes na formulação era de apenas 7,92% o que atenuou de sobremaneira a sua sobreposição. O programa de imagem empregado em ambos os trabalhos possui ferramenta que permite a segmentação (Watershed) da imagem e separação de partículas, no entanto, é limitada quando há grande sobreposição particular.

Apesar da convexidade do comprimido e da presença igualmente de partículas claras no GRPSA (ex. celulose microcristalina) mesmo após o tratamento da imagem, que prejudicam a análise de imagem, a área da fração dos GRADJ nas faces dos comprimidos tornou manifesta a diferença estatística entre ambas e, por sua vez, o fenômeno de percolação (tabela 6.5.2).

Tabela 6.5.2. Área percentual correspondente aos granulados de adjuvantes após tratamento de imagens nas faces superior e inferior dos CP40 e CP80 produzidos nas diferentes rotações

Rotação (rpm)	30	20	10	5
Comprimido	Média ± s (dpr %)			
CP40				
Face Superior	44,3 ^a ± 2,6 (5,9)	43,3 ^a ± 3,1 (7,2)	43,7 ^a ± 2,6 (6,1)	N.D.
Face Inferior	57,0 ^b ± 2,6 (4,5)	69,5 ^c ± 2,7 (3,8)	60,9 ^b ± 3,7 (6,0)	N.D.
CP80				
Face Superior	44,1 ^a ± 4,1 (9,3)	48,8 ^{ac} ± 1,1 (2,3)	40,3 ^{ae} ± 5,2 (12,9)	39,4 ^{ae} ± 4,2 (10,6)
Face Inferior	60,7 ^b ± 4,6 (7,5)	70,4 ^d ± 2,2 (3,2)	64,5 ^{bd} ± 3,9 (6,0)	57,1 ^{bf} ± 3,2 (5,6)

Médias seguidas de mesma letra, para a mesma formulação, não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$); N.D.= não determinada

As faces superiores e inferiores dos CP40 e CP80 obtidos sob as mesmas velocidades rotativas não apresentaram diferenças estatísticas (teste t de *Student* considerando variâncias diferentes ou equivalentes após teste F, $\alpha = 0,05$), exceção

feita à face superior nas rotações de 20 rpm. Apesar disso, houve distinção nas áreas dos comprimidos da mesma formulação em diferentes rotações.

A despeito da menor proporção ponderal do GRADJ, a sua menor densidade aproxima o volume deste com o GRPSA no complexo farmacêutico e explica sua elevada presença mesmo na face superior. Outrossim, sua menor resistência mecânica o torna mais susceptível a fragmentação, aumentando, desta forma, a sua área superficial e permitindo que ocorra segregação por diferença granulométrica.

A segregação ocorre devido a diferenças morfológicas, granulométrica e de densidade das partículas dentro de uma mistura (TWITCHELL, 2005). Quando a segregação é devida à diferença granulométrica é denominada de percolação. A percolação é a melhor explicação para o apresentado nos comprimidos visto que embora os granulados difiram quanto à densidade, os GRADJ, menos densos, deveriam estar com maior presença na face superior. A morfologia tão pouco explica, uma vez, que ambos granulados possuem apenas pequenas diferenças quanto ao formato.

A grande amplitude granulométrica foi atribuída como maior responsável pela percolação por Spaniol e col. (2009). No presente trabalho utilizou-se igualmente a mesma amplitude granulométrica, mas devida à acentuada presença de percolação observada por meio das áreas, tal explicação, neste caso específico, parece insuficiente. A faixa granulométrica é ampla não apenas para o GRADJ, mas também para os GRPSA nos quais este foi baseado. A amplitude granulométrica justificaria uma eventual percolação com distribuição na face inferior predominantemente de GRPSA, mas não uma sistemática percolação com um perfil tão reprodutível.

Outra opção plausível é baseada na menor resistência mecânica do GRADJ o que favorece uma fragmentação da estrutura secundária durante o processo compressional. Essa mudança de granulometria, mormente no GRADJ, favoreceria sua percolação. O estudo de física da compressão atestou para o GRADJ um comportamento plástico, não obstante com alto rearranjo e fragmentação nas etapas iniciais da compressão (item 8.5). Essa provável fragmentação nas etapas iniciais

possibilita que nas etapas consecutivas houvesse tempo suficiente para que as partículas menores se deslocassem para o fundo da matriz.

A diferença apresentada entre as velocidades de rotação pode ser arrojada ao nível de fragmentação na etapa inicial de rearranjo e ao tempo necessário para que ocorra a percolação. A maior percolação por área foi apresentada na face inferior do CP40 e CP80 na rotação 20 rpm. Nas rotações de 30, 10 e 5 rpm se observaram resultados aproximados. Embora a deformação fragmentativa seja tempo independente, uma maior velocidade de compressão pode favorecer uma maior abrasão na fase de inicial de compressão visto que permite pouco tempo para a acomodação das partículas. Tal fato explicaria os maiores valores de área para a rotação 20 rpm quando comparada às de 10 e 5 rpm. O tempo necessário para que as partículas oriundas da fragmentação percolem, por sua vez, explica o porquê da maior velocidade (30 rpm) não resultar, igualmente, em maior área do GRADJ na face inferior. A percolação depende do tempo, visto que as menores partículas devem “encontrar” espaços vazios dentro do leito pulveroso.

Outra análise realizada foi relativa à análise colorimétrica dos comprimidos empregando o modelo de cor RGB e a escala cinza com ferramentas presentes no *software* ImageJ. RGB é uma abreviatura do sistema de cores aditivas, formado por vermelho (**R**ed), verde (**G**reen) e Azul (**B**lue) que juntos possibilitam reproduzir um grande espectro de cores. O modelo de cores RGB é baseado na teoria da estrutura tricromática da retina e no triângulo de cores de Maxwell (HOLDSCHIP e MARAR, 2008). A principal aplicabilidade deste modelo é a representação e desenvolvimento de imagens em sistemas eletrônicos, tais como televisões e câmeras fotográficas digitais (CHENG e col., 2001).

A partir das três coordenadas (vermelho, verde e azul) é possível descrever a célula básica da informação da imagem (*pixel*). Cada uma dessas coordenadas assume valores discretos de 0 a 255 que vão do escuro ao claro correspondendo a 8 bits. A escala cinza é a transformação do padrão RGB mais complexo em apenas uma

coordenada, igualmente, com 256 níveis. Desta forma, possui como vantagem a maior simplicidade na descrição da informação das imagens (DIAS, 2008).

Devida à grande diferença entre o GRADJ e os GRPSA do ponto de vista colorimétrico foram empregadas as medidas da suas colorações como suporte à análise da percolação. A descrição do incipiente escurecimento nos comprimidos, observado nas forças de compressão mais elevadas, também poderia ser realizada caso não houvesse a presença do GRADJ que obscurece a interpretação. A grande semelhança entre os perfis de distribuição do padrão RGB nas mesmas faces dos CP40 e CP80 nas diferentes rotações permitiu sintetizar as informações pelas figuras 6.5.3 e 6.5.4 que são representativas dos demais comprimidos.

As figuras 6.5.3 e 6.5.4 demonstram clara distinção entre as faces, havendo um deslocamento para valores mais altos na distribuição que representa a face inferior dos comprimidos, haja vista que nestas há maior área percentual do GRADJ. Corroboram com essa análise os valores de moda, medida de tendência central mais adequada neste caso, que apresentam os menores valores na coordenada verde e azul para a face superior. Quanto a este parâmetro a coordenada vermelha não permitiu boa discriminação entre as faces, apenas na avaliação visual da distribuição.

Empregando a escala cinza, a média e a amplitude não foram discriminativas, contudo, a moda novamente mostrou ser mais adequada para distinção entre as faces. A face superior variou entre os valores da moda de 127 a 134 para CP40 e CP80 de todas as rotações sendo diferentes dos valores para face inferior, que variaram entre 164 e 170. A mesma lógica funciona para a escala cinza cujos maiores valores de moda atestam uma proporção de pixels comprometida com uma tonalidade mais clara, ou seja, confirma a maior presença de GRADJ na face inferior conforme constatada por meio de análise colorimétrica. Uma das grandes vantagens destas análises colorimétricas é a ausência de tratamento das imagens prévia à mensuração dos parâmetros de interesse. Muito embora não tenha sido empregado nenhum padrão de coloração ou o modelo de coloração internacional vigente, dado pela *Commission Internationale de l'Éclairage* (CIE), por ser uma análise comparativa entre os diferentes

comprimidos e suas faces, não houve a necessidade imperativa de tal (HOLDSCHIP e MARAR, 2008).

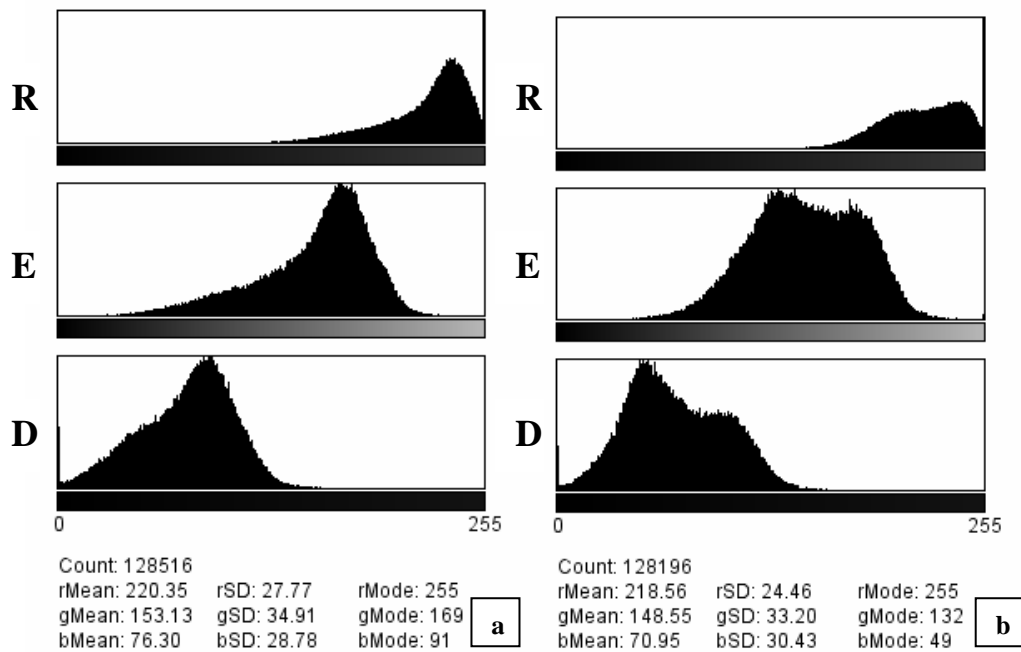


Figura 6.5.3. Face inferior (a) e face superior (b) do CP40 da rotação de 20 rpm nas três coordenadas do padrão R (RED), G (GREEN) e B (BLUE).

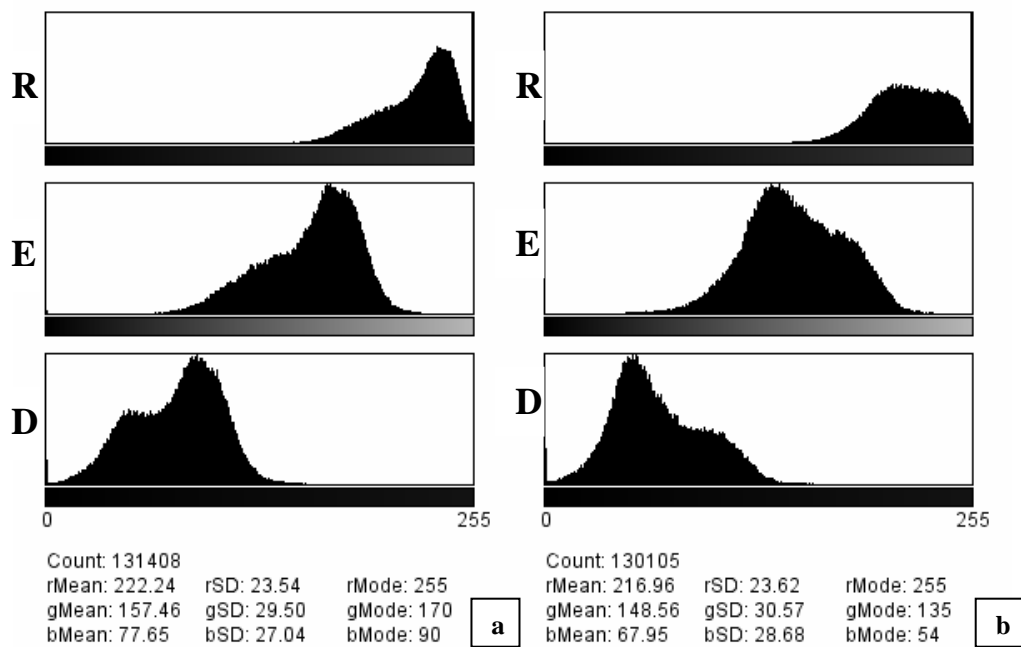


Figura 6.5.4. Face inferior (a) e face superior (b) do CP80 na rotação de 20 rpm nas três coordenadas do padrão R (RED), G (GREEN) e B (BLUE).

Os comprimidos apresentaram perda por dessecação de $4,37 \pm 0,19$ e $3,68 \pm 0,12$ %; respectivamente, para os CP40 e CP80. Os valores apresentados para o CF40 e CF80 foram de 3,93 e 3,30 %. Essa pequena diferença pode ser considerada de pouca relevância.

Observa-se pela tabela 6.5.3 que, embora as duas formulações possuam características semelhantes quanto ao fluxo e à densidade, como atestado na caracterização dos CF, existe uma evidente diferença no comportamento entre estas quando submetidas a diferentes velocidades rotacionais.

Tabela 6.5.3. Avaliação do peso médio, dimensão espacial, densidade aparente e porosidade dos comprimidos das duas formulações nas diversas velocidades.

Critério	Rotação (rpm)			
	30	20	10	5
Média \pm s (dpr %)				
Peso médio (mg)				
CP40	250,4 ^a \pm 3,6 (1,4)	260,6 ^b \pm 2,6 (1,0)	256,6 ^c \pm 2,6 (1,0)	N.D.
CP80	249,4 ^a \pm 3,0 (1,2)	252,8 ^a \pm 2,8 (1,1)	252,3 ^a \pm 2,4 (0,9)	252,3 ^a \pm 3,8 (1,5)
Volume (mm³)				
CP40	203,5 ^a \pm 1,2 (0,6)	202,1 ^b \pm 1,4 (0,7)	199,7 ^c \pm 1,1 (0,6)	N.D.
CP80	207,5 ^d \pm 1,4 (0,7)	207,5 ^d \pm 1,5 (0,7)	206,2 ^e \pm 0,9 (0,4)	206,2 ^e \pm 1,0 (0,5)
Dens. aparente (g/cm³)				
CP40	1,24 ^a \pm 0,01 (1,3)	1,30 ^b \pm 0,01 (1,2)	1,28 ^c \pm 0,01 (1,6)	N.D.
CP80	1,20 ^d \pm 0,02 (1,6)	1,21 ^e \pm 0,01 (1,4)	1,22 ^e \pm 0,01 (1,1)	1,22 ^e \pm 0,01 (1,3)
Porosidade (%)				
CP40	22,63 ^a \pm 1,1 (4,6)	18,98 ^b \pm 1,0 (5,2)	20,26 ^c \pm 1,3 (6,4)	N.D.
CP80	22,96 ^{ad} \pm 1,2 (5,4)	21,89 ^{ab} \pm 1,11 (5,1)	21,53 ^e \pm 0,9 (4,1)	21,60 ^e \pm 1,0 (4,6)

Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($\alpha = 0,05$); N.D.= não determinada

Os comprimidos de CF40 (CP40) sofreram variações do peso médio conforme a velocidade, mostrando-se bem sensíveis a esse fator. O peso médio obtido na fase de ajuste no JOG (± 5 rpm) apresenta um acréscimo de valor quando se estabelece o aumento para 10 rpm, e, novamente, quando atinge a rotação de 20 rpm. Esperar-se-ia que tal tendência causasse elevação do peso médio na rotação de 30 rpm, no entanto, esse declina voltando aos valores iniciais. Cabe ressaltar que esta variabilidade ao longo do processo não foi decorrente da diminuição do CF40 no alimentador, haja vista o baixo desvio padrão relativo apresentado entre os CP40 dentro das rotações. Apesar das diferenças estatisticamente significativas entre as rotações, o coeficiente de variação de peso de todos os comprimidos encontra-se dentro da faixa de aceitação prevista nos compêndios oficiais ($\pm 5\%$) não havendo nenhum comprimido fora desta faixa.

Os pesos médios dos comprimidos de CF80 (CP80) não sofreram alteração nas três primeiras velocidades de rotação, mas apenas uma tênue diminuição na rotação de 30 rpm, deste modo se empregou mais uma velocidade de compressão para se comprovar a sua robustez. A rotação de 5 rpm foi escolhida também devido a impossibilidade de utilizar rotações maiores com risco de causar danos no equipamento, e visando verificar se o equipamento poderia ter sofrido algum desajuste ao longo das outras rotações. Essa velocidade de trabalho, entretanto, confirmou o ajuste inicial pelo JOG e mostrou a grande insensibilidade da formulação perante a velocidade de revoluções empregadas no equipamento.

O comportamento reológico dos pós é dependente das características particulares como, por exemplo, tamanho e distribuição granulométrica, morfologia e área superficial, condições ambientais, tais como umidade, temperatura e pressão atmosféricas, e do estado corrente do material, como aeração, umidade residual, grau de densificação e presença de cargas eletrostáticas. Os mecanismos de enchimento da matriz de máquinas rotativas levam em consideração, além da força gravitacional e dos fatores previamente mencionados, a influência do modo de alimentação proporcionada pelo distribuidor, o preenchimento por sucção, proporcionada pelo abaixamento do punção inferior na zona de alimentação, o posterior controle de peso

exercido pelo punção inferior que em movimento ascendente ejeta o excesso de CF, as dimensões e formatos dos punções, matrizes, alimentadores e distribuidores, mas também o efeito inercial do movimento circular (força centrífuga) e as vibrações da máquina (SINKA e col., 2004; JACKSON e col., 2007; SINKA e col., 2009).

A complexidade multifatorial do preenchimento de câmaras de compressão explica por que existe ainda grande dificuldade de se prever por meio dos métodos convencionais a mensuração desse parâmetro. Igualmente, a análise reológica realizada no complexo farmacêutico é limitada visto que leva em consideração apenas a influência da força gravitacional, e, embora o funil do fluxômetro possua abertura similar ao diâmetro da matriz (10 mm), possui um desenho completamente diferente do alimentador empregado.

Desta forma, embora os complexos farmacêuticos tenham se comportado de forma similar sobre o efeito da gravidade no método de fluxo direto, ainda assim esse comportamento não pode ser extrapolado para o efeito da sucção proveniente do movimento descendente do punção inferior ou para a força centrífuga. O procedimento realizado nos dois CF ocorreu sob as mesmas condições ambientais e de processo. As vibrações ocorreram, principalmente, nas maiores velocidades rotacionais, entretanto, a ordem empregada foi à mesma para os dois CF (20, 30 e 10 rpm). Para o CF80 a velocidade de 5 rpm foi a última a ser utilizada. Outra possibilidade aventada é que o CF40 possuiria maior suscetibilidade às vibrações, mas os dados densitométricos atestam o contrário, notadamente, os índices de densificação não se diferenciaram estatisticamente entre si e apontam a estabilidade de empacotamento dos sistemas particulados. Ainda assim o efeito das vibrações não deve ser renegado.

Outro fenômeno, aparentemente anômalo para o CF40, consiste no aumento do peso médio dos comprimidos com o aumento da velocidade, entretanto, na rotação de 30 rpm ocorre uma brusca diminuição. O aumento do peso médio com o aumento da velocidade pode ser atribuível a muitas etiologias, maior vibração, sucção mais eficiente causada pela mais rápida descida do punção inferior, maior efeito inercial devido às revoluções (força centrífuga) e o efeito aditivo ou/e sinérgico destes e outros

fatores não mencionados. Com relação ao decréscimo deste parâmetro na velocidade de 30 rpm se pode aventar de que o fenômeno que explica o aumento do peso continue a ocorrer, mas conjuntamente com a ultrapassagem do limite da velocidade crítica.

O volume dos comprimidos foi obtido por meio da medida do diâmetro, altura e espessura dos bordos com paquímetro digital. A mensuração dos bordos do comprimido teve que ser realizada em triplicata devido à imprecisão na medida. Este procedimento auxiliou na obtenção de baixa variabilidade quando comparado aos comprimidos obtidos de GRADJ e durante o estudo de física da compressão. Os volumes dos comprimidos obtidos de CF40 foram estatisticamente diferentes entre si, o que pode ser atribuído a diferença de quantidade de complexo farmacêutico depositada na câmara de compressão, que resultaria, também, em distintas densidades e porosidades dos comprimidos formados.

Quanto ao CP80, a velocidade de rotação parece ter sido fator capital para o maior volume apresentado para os comprimidos advindos das condições de 20 e 30 rpm. A menor densidade dos comprimidos obtidos na rotação de 30 rpm está relacionada com a maior recuperação elástica, haja visto que nesta velocidade de revolução o tempo de aplicação da força é menor, especialmente o *dwell time*, proporcionando uma menor eficiência da deformação plástica (REES e RUE, 1978).

A porosidade, como previsto, foi diferente nas três velocidades para o CP40. Igualmente, na formulação de CF80 só os comprimidos obtidos na velocidade de 30 rpm apresentaram diferença estatística dos demais. O volume de recuperação não pode ser realizado, pois os resultados mostram clara incongruência com os dados de porosidade, atestando problemas na medida da distância entre os punções conforme já apresentado no item 5.5. A tabela 6.5.4 mostra outros testes realizados para uma melhor caracterização dos comprimidos e do processo de compressão.

A distinção apresentada nos CP40 para a resistência à força de esmagamento radial (dureza) se deve ao peso médio e ao tempo de aplicação da força compressional (tabela 6.5.4). O menor peso médio para os comprimidos obtidos na rotação de 30 rpm explica o menor valor de resistência mecânica. A maior massa depositada na câmara

de compressão, para um mesmo deslocamento dos punções, diminui os espaços intergranulares e intragranulares durante a compressão, favorecendo uma maior interação particular e molecular (principalmente forças de *van der Waals*) e, por conseguinte, aumenta a resistência mecânica do comprimido. O efeito temporal, entretanto, não pode ser negligenciado para o CP40 obtido a 30 rpm.

Tabela 6.5.4. Avaliação das características tecnológicas dos comprimidos e do processo

Rotação (rpm)	30	20	10	5
Parâmetro	Média ± s (dpr %)			
Dureza (N)				
CP40	51,12 ^a ± 5,69 (11,12)	64,55 ^b ± 7,51 (11,64)	73,59 ^c ± 7,62 (10,35)	N.D.
CP80	58,20 ^d ± 4,80 (8,25)	64,99 ^b ± 4,32 (6,65)	66,33 ^b ± 5,32 (8,01)	67,01 ^b ± 5,68 (8,48)
RT (N/mm ²)				
CP40	1,11 ^a ± 0,12 (11,22)	1,42 ^b ± 0,17 (12,04)	1,63 ^c ± 0,17 (10,63)	N.D.
CP80	1,23 ^a ± 0,11 (8,77)	1,38 ^b ± 0,10 (7,09)	1,42 ^b ± 0,12 (8,20)	1,43 ^b ± 0,12 (8,22)
Força de compressão (N)				
CP 40	4449 ^a ± 229 (5,14)	3535 ^b ± 284 (8,03)	3788 ^c ± 255 (6,73)	N.D.
CP 80	4368 ^{ad} ± 188 (4,30)	4121 ^{ed} ± 128 (3,10)	4240 ^d ± 240 (5,66)	4043 ^e ± 292 (7,22)
Força de ejeção (N)				
CP 40	20,6 ^a ± 5,3	13,6 ^b ± 3,8	28,7 ^c ± 6,5	N.D.
CP 80	32,4 ^{ce} ± 6,2	25,03 ^{cf} ± 4,73	44,8 ^d ± 5,7	19,3 ^a ± 5,3

Médias seguidas de mesma letra, para o mesmo parâmetro, não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$); N.D. = não determinado. RT = resistência à tensão.

O maior valor de dureza para os comprimidos obtidos na rotação de 10 rpm em relação a 20 rpm se deve, predominantemente, à dependência do tempo de exercício da força máxima para uma efetiva deformação plástica, visto que esta última apresenta maior peso médio.

O CP40 obtidos a 20 rpm apresentaram, a despeito da sua diferença quanto ao peso médio, valor de resistência ao esmagamento radial igual ao CP80 de mesma rotação. Optou-se pelos comprimidos dessa rotação para uma caracterização mais completa, pois mostraram um valor intermediário entre as velocidades empregadas, sendo mais realístico de um ponto de vista industrial, quando comparado a menores rotações, e por terem apresentado valores de dureza e porosidade próximos entre as formulações. Esses últimos aspectos podem afetar conjuntamente aspectos biofarmacêuticos (SHARGEL e col., 2004).

Os comprimidos CP80 apresentaram patente influência do tempo de exercício da força de compressão na diferença apresentada nos ensaios de resistência mecânica devido à similitude nas massas dos mesmos. Novamente, o CP80 obtido a 30 rpm apresentou a menor resistência à força de esmagamento radial, atribuível, principalmente, ao fator previamente comentado.

A fim de minimizar o efeito da morfologia e das dimensões dos comprimidos, empregou-se a equação empírica de resistência à tensão para comprimidos convexos. A equação mostrou-se plenamente adequada para os comprimidos obtidos já que estes possuem fratura por tensão simples e apresentam razão de C/D (espessura do cilindro central pelo diâmetro) de 0,22 – 0,23, ou seja, dentro da faixa válida de 0,06 – 0,3 (PITT e col., 1988).

Os resultados de resistência à tensão não alteraram as conclusões prévias, corroborando com o efeito do *dwell time* sob as formulações, exceção feita a maior aproximação de valores entre os CP40 e CP80 na rotação de 30 rpm. O coeficiente de correlação entre a média da resistência à tensão e as rotações foi de 0,94 para a formulação CF80, corroborando com as conclusões supracitadas.

Ao longo do processo de compressão foram capturados dados da força de compressão e da força de ejeção. A amostragem foi variável conforme a possibilidade de aquisição dos dados e disponibilidade de tempo. O elevado desvio padrão das forças de compressão explica, parcialmente, o alto desvio apresentado na dureza e na resistência à tensão. Como será observado no estudo da física da compressão (item 7)

esta alta variabilidade não se deve à máquina de comprimir, e sim a forma granulada, uma vez que o material pulveroso apresentou baixo desvio padrão relativo.

A força de compressão empregada no estudo corresponde à força máxima aplicada. Numa dada velocidade de compressão, para um complexo farmacêutico com deformação predominantemente plástica, o aumento da força de compressão resulta, simplificadamente, numa maior dureza ou/e resistência à tensão. Ocorre que em velocidades diferentes, o tempo de exercício da força entra em jogo, podendo modificar esse paradigma. Além disso, a força máxima de compressão não representa, adequadamente, o trabalho realizado pelos punções por ser uma medida puntual.

O estudo de Roberts e Rowe (1985) atesta que materiais como a celulose microcristalina PH101 e produtos predominantemente amorfos possuem alto grau de sensibilidade à velocidade rotativa (SRS) devido à sua natureza visco-plástica. Este adjuvante e os PSA40 e PSA80, com características amorfas, são os constituintes majoritários nas formulações deste trabalho. Comprimidos constituídos de materiais com alta SRS, quando produzidos em diferentes velocidades rotativas, podem apresentar divergentes propriedades físicas (dureza e friabilidade). O acréscimo de materiais com propriedades de densificação por fragmentação (ex. fosfato de cálcio) atenua esses problemas por possuir SRS baixo (JIVRAJ e col., 2000).

Soares e col. (2003), por meio de desenho de composto central, não observou influência da força de compressão sobre a dureza e friabilidade dos comprimidos, muito embora, tenha apresentado uma faixa de velocidade menos ampla que o deste trabalho (18 a 32 rpm para os pontos estrelas).

O trabalho de Spaniol (2007) resultou de complexo farmacêutico com comportamento similar ao apresentado pelo CF80, sem alteração do peso médio nas diferentes velocidades, muito embora, a dureza e a resistência à tensão tenham mostrado valores estatisticamente diferentes entre os comprimidos obtidos nas rotações de 15 e 30 rpm. O coeficiente de correlação entre as velocidades de compressão e a resistência à tensão foi de 0,98; semelhante ao observado para o CP80.

Desta forma, torna-se claro o porquê de comprimidos obtidos com maior valor de força máxima de compressão não terem apresentado, igualmente, dureza e resistência à tensão mais elevadas. Além disso, a menor força de compressão apresentada nas menores velocidades de rotação se deve ao maior amortecimento ocasionado por propriedades plásticas exaltadas no material.

A força de ejeção corresponde à força necessária para que o punção inferior expulse o comprimido da matriz, sendo diretamente relacionada ao estado de lubrificação do complexo farmacêutico e das ferramentas de compressão. A força de ejeção não apresentou gradual aumento ao longo do processo de compressão para as duas formulações, sendo dependente da velocidade de rotação. Os maiores valores foram observados na velocidade de 10 rpm, não obstante, mesmo nesta, a força de ejeção foi baixa mostrando adequabilidade da lubrificação.

Objetivando-se uma melhor avaliação da resistência à abrasão dos comprimidos obtidos nas diferentes velocidades de rotação se realizou um perfil de friabilidade (figuras 6.5.5 e 6.5.6). Outra aplicação deste método é avaliar a existência de fenômenos de laminação e de capeamento incipientes (LENNARTZ e MIELCK, 1998). Comprimidos sem defeitos visíveis podem, sob tensões decorrentes deste método de avaliação da resistência mecânica, apresentar falhas estruturais (ALDERBORN, 2005).

Mesmo no maior número de revoluções no friabilômetro, nenhum dos comprimidos apresentou qualquer sinal de laminação e/ou descabeçamento. Os valores de friabilidade foram muito inferiores ao preconizado pela Farmacopéia Brasileira (1,5%; m/m).

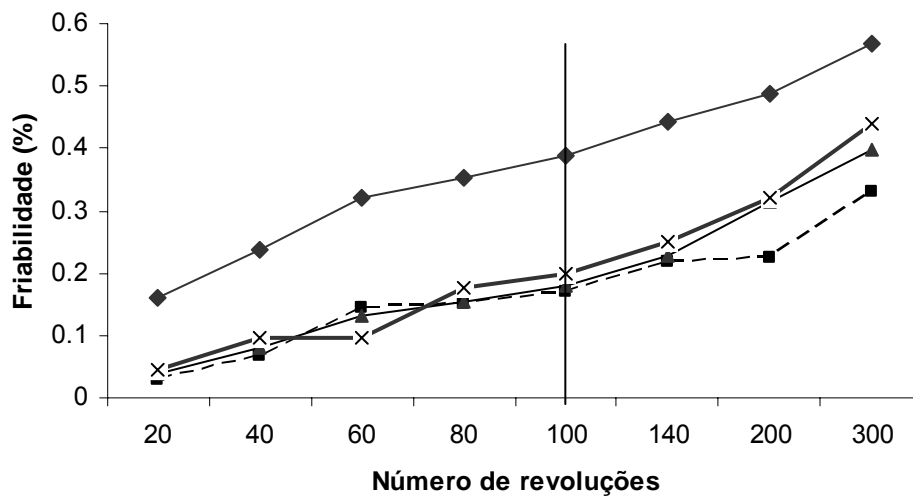


Figura 6.5.5. Perfil de friabilidade dos comprimidos contendo o complexo farmacêutico de PSA40. (velocidades de rotação da máquina de comprimir: ◆ = 10; ■ = 20; ▲ = 30 rpm). A linha vertical demarca o número de revoluções preconizado pela farmacopéia para o teste de friabilidade.

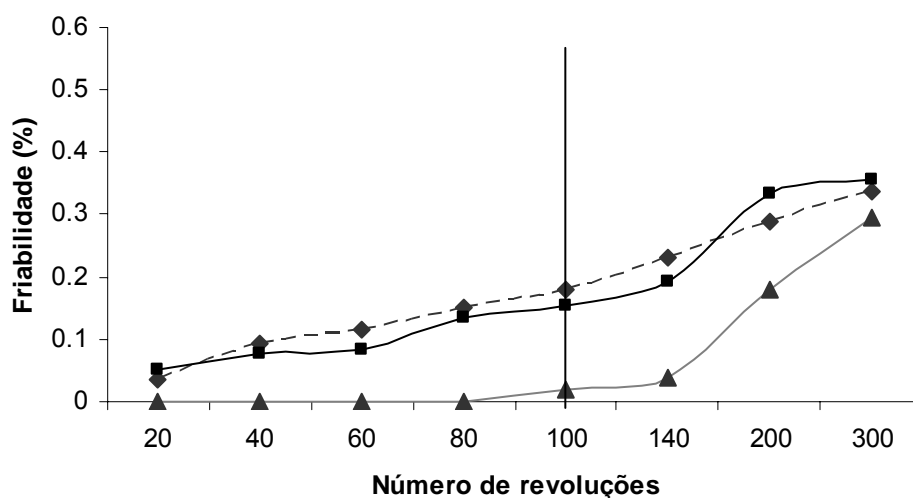


Figura 6.5.6. Perfil de friabilidade dos comprimidos contendo o complexo farmacêutico de PSA80. (velocidades de rotação da máquina de comprimir: x = 5; ◆ = 10; ■ = 20; ▲ = 30 rpm). A linha vertical demarca o número de revoluções preconizados pela farmacopéia.

A friabilidade apresentada pelo CP40 denota um perfil diferenciado na velocidade de compressão de 30 rpm. Esperar-se-ia que, nesses comprimidos, a friabilidade fosse maior devido à menor dureza e à maior porosidade, resultantes do

menor tempo de exercício da força compressional. Todavia, como observado por Spaniol (2007), o mais rápido aumento da força na rotação 30 rpm pode conduzir a formação de ligações mais efetivas entre as partículas da superfície do compacto justificando os resultados. Além disso, a maior força de compressão foi também apresentada nesta velocidade.

Nos CP80 fica explícita a diferença da velocidade de compressão de 10 rpm das demais (Figura 6.5.6). As hipóteses de que a maior velocidade resultaria em comprimidos com regiões externas mais coesas e que o maior tempo de exercício da força, conduziria a maior coesão geral do comprimido, devido à inerente plasticidade dos materiais, não podem sozinhas explicar a diferença entre os perfis de friabilidade. Não obstante, a união dessas duas teorias pode gerar uma explicação mais plausível para o fenômeno.

A explanação para este comportamento poderia ser buscada no fato de que nas velocidades maiores (20 e 30 rpm) ocorreria um mais rápido alcance da força máxima resultando em comprimidos com superfície mais resistente à abrasão. Na menor velocidade (5 rpm), entretanto, o longo *dwell time* permitiria formar comprimidos cuja estrutura interna e, inclusive, a externa, apresentem coesão mais efetiva. O CP80 a 10 rpm, entretanto tem uma superfície externa mais frágil, visto que a compressão não possui, nesta condição, velocidade suficiente para formar ligações efetivas periféricas e nem *dwell time* longo para uma satisfatória coesão externa e interna. Igualmente, a maior força de ejeção apresentada foi nesta rotação que se deve a presença de maior atrito entre o comprimido e as ferramentas compressionais, e explica a maior fragilidade na superfície dos mesmos.

O tempo de desintegração apresentou valores bem abaixo dos limites preconizados pelo código oficial para ambas as formulações em todas as rotações. Utilizando teste de ANOVA *One Way* ($\alpha = 0,05$) foi possível verificar que não há diferença entre os comprimidos obtidos em diferentes velocidades dentro das formulações.

O *Boxplot* (figura 6.5.7) evidencia o maior tempo de desintegração e mais ampla variabilidade apresentados pelos CP40, tal fato pode ser atribuído às características inerentes do principal constituinte da formulação, o PSA40. Os briquetes de PSA40 apresentaram maior tempo de desintegração que os briquetes de PSA80, o que foi creditado à natureza do PSA40 e à menor porosidade desses.

A presença do superdesintegrante amidoglicolato de sódio na fase externa e interna, bem como a elevada concentração de celulose microcristalina, que possui ação desintegrante em concentrações acima de 20 % (m/m), possibilitou a obtenção de comprimidos de desintegração muito rápida (SINGH e NAINI, 2007). Os valores de desintegração ratificam que esta etapa não será entrave para dissolução.

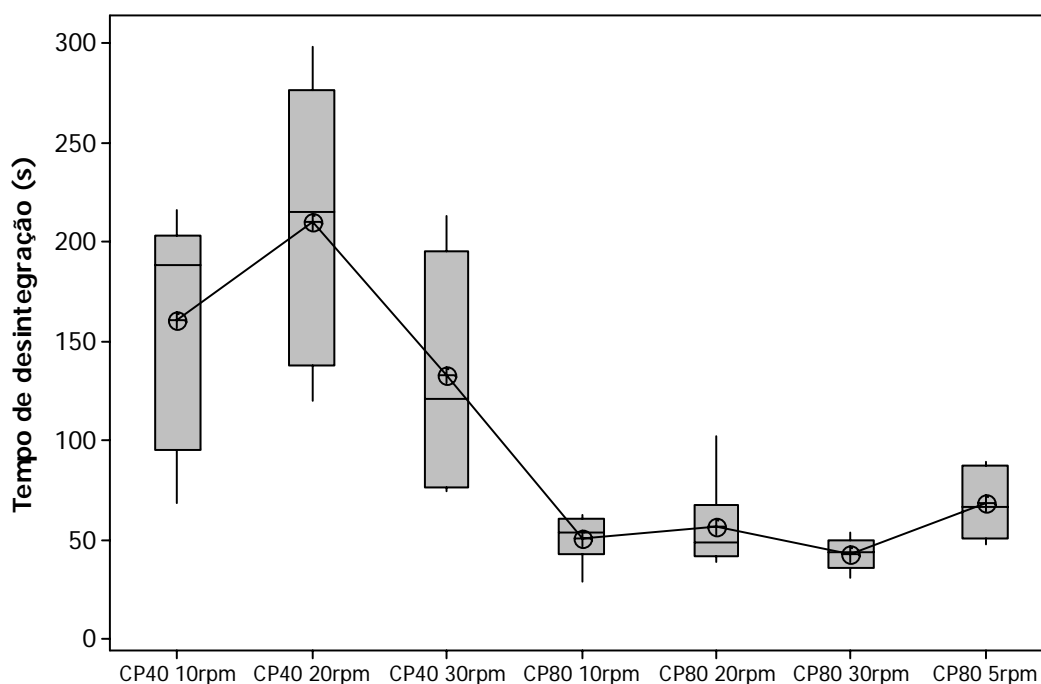


Figura 6.5.7. *Boxplot* do tempo de desintegração dos comprimidos das formulações nas diferentes velocidades de compressão.

A uniformidade de dose foi realizada a fim de avaliar o conteúdo dos flavonóides majoritários (quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina) dos PSA presentes nos comprimido. Este ensaio possibilita a avaliação da eficiência das duas etapas de misturas realizadas no processo, bem como da manutenção dos flavonóides majoritários ao longo de todo o processo. Os resultados foram comparados com o

percentual teórico de PSA presente em comprimidos advindos de misturas perfeitamente homogêneas (tabela 6.5.5).

Tabela 6.5.5. Uniformidade de conteúdo dos comprimidos obtidos

Substância CP	Quercetina (%) Média ± s (dpr %)	Luteolina (%) Média ± s (dpr %)	3-O-Metilquercetina (%) Média ± s (dpr %)
CP40	97,11 ^a ± 1,89 (1,95)	98,99 ^a ± 1,89 (1,91)	98,19 ^a ± 2,01 (2,04)
CP80	99,06 ^a ± 1,36 (1,37)	108,37 ^b ± 1,81 (1,67)	100,97 ^a ± 1,50 (1,48)

Médias seguidas de mesma letra, para a mesma linha, não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$). CP = comprimido.

Utilizando o teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$), apenas os valores de quercetina para o CP40 e luteolina para o CP80 diferem de 100 % de uniformidade. Apesar da alta concentração de adjuvantes, os resultados reafirmam o poder de recuperação das soluções hidroalcoólicas na extração destes flavonóides mesmo para uma matriz altamente complexa.

Os flavonóides do CP40 tiveram seus teores estatisticamente iguais. A diferença apresentada para a luteolina do CP80 se deve, provavelmente, a erros analíticos. O PSA é considerado um produto seco homogêneo e não houve nenhuma etapa que pudesse favorecer uma migração específica da luteolina tornando desigual a sua distribuição no GRPSA80 que os outros flavonóides, igualmente, não tenham sofrido.

Todos os valores individuais de cada comprimido compreenderam a faixa de 85% - 115% de uniformidade de conteúdo preconizada para a maioria das formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata. O desvio padrão baixo (< 6 %) confirma o adequado processo de mistura inicial para produção dos briquetes e posterior para a formação do complexo farmacêutico final (QURESHI, 2007). O desvio padrão relativo próximo dos valores obtidos para o peso médio reforçam as conclusões anteriores.

A diferença entre as densidades do GRPSA e GRADJ das formulações não acarretou em segregação, em parte, devido à padronização granulométrica deste último. A diferença na densidade e na morfologia e o efeito triboelétrico podem contribuir para a segregação, no entanto, o principal fator consiste é a granulometria

(AIACHE e BEYSSAC, 2007). Muito embora, o método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência ainda não houvesse sido validado para aplicação na otimização da operação de mistura final, a avaliação visual das misturas granuladas permitiu uma estimativa qualitativa adequada do estado de distribuição dos componentes particulados.

O processamento tecnológico não alterou o perfil cromatográfico qualitativo nem a concentração dos flavonóides majoritários, evidenciando a boa estabilidade dos mesmos nas etapas empregadas. Entretanto, o pico anterior ao da quercetina (tempo de retenção em torno de 6 min, fig. 6.5.8) no CP40 apresentou diminuição da sua área pela metade, enquanto a bichalcona (pico com tempo de retenção em torno de 13 min, fig. 6.5.8) mostrou igualmente redução de área, possivelmente, devido a uma substancial degradação, haja vista sua baixa estabilidade (HOLZSCHUH, 2008). Os CP80 conservaram melhor a bichalcona (tempo de retenção de 13 min, fig. 6.5.9) possuindo teor médio de 78,3 %.

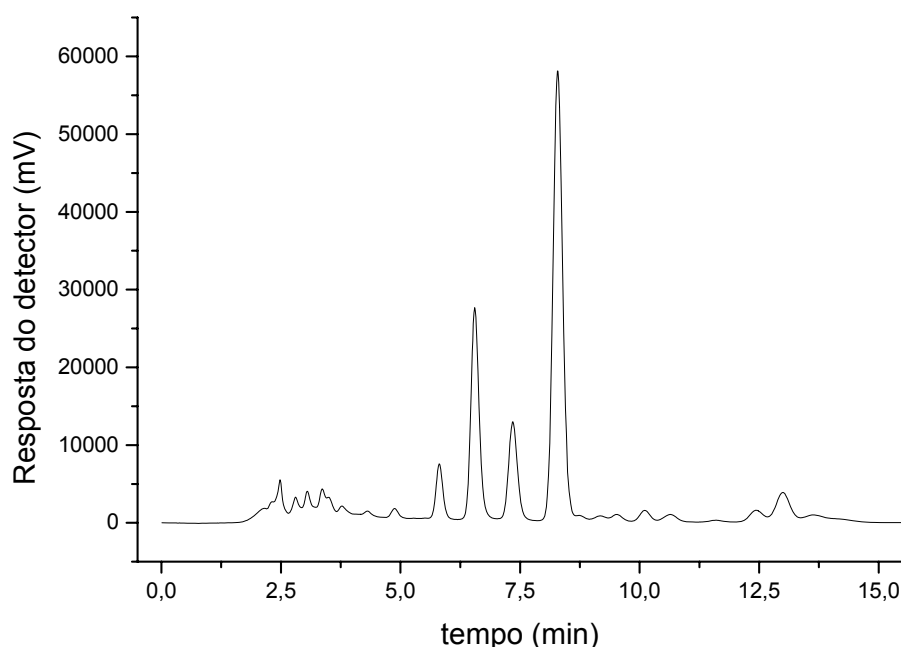


Figura 6.5.8. Perfil cromatográfico por CLAE do CP40 obtido na rotação 20 rpm

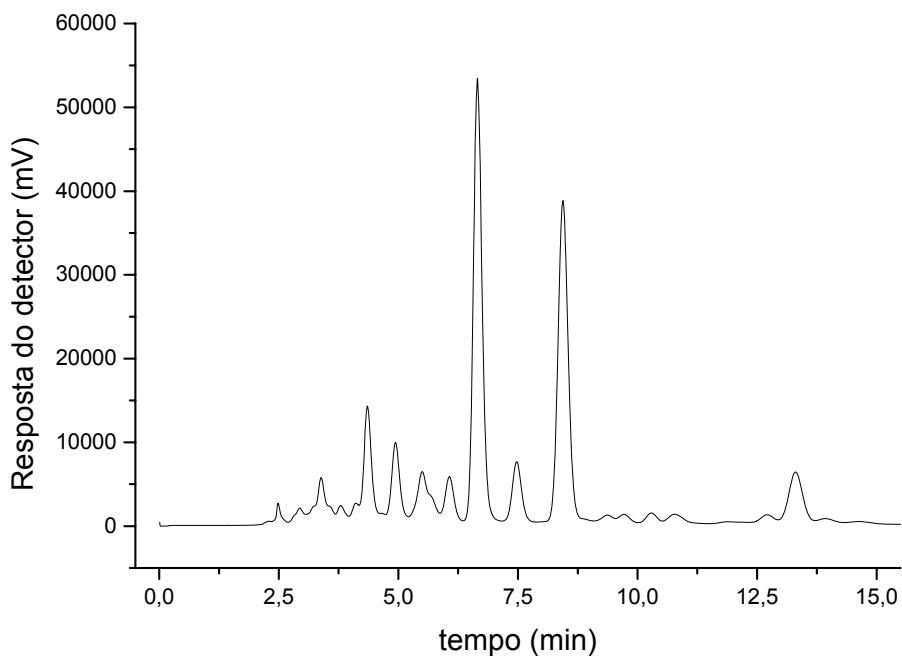


Figura 6.5.9. Perfil cromatográfico por CLAE do CP80 obtido na rotação 20 rpm

O ensaio de cedência (figuras 6.5.10 e 6.5.11) corrobora com os dados de desintegração, demonstrando já nos primeiros pontos, alto teor dos flavonóides dissolvidos. Esse comportamento permite classificá-los como formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (BRASIL, 2003).

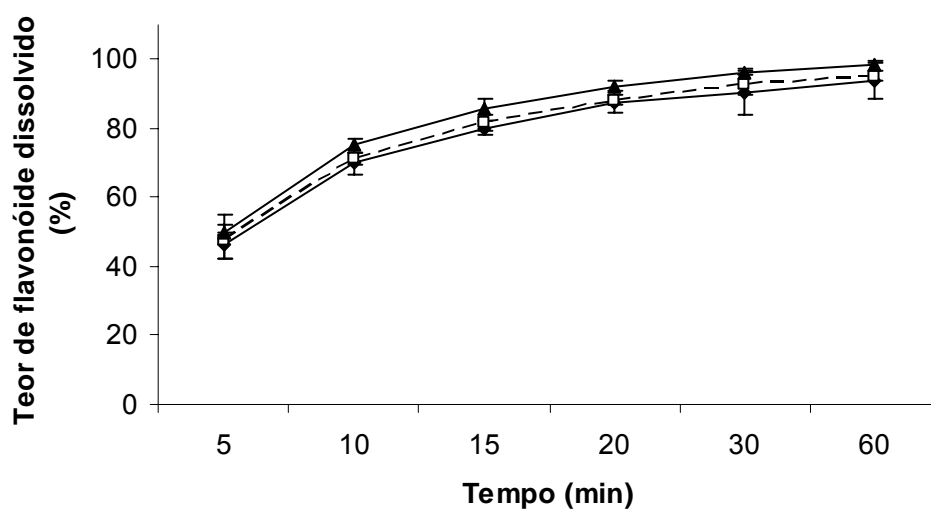


Figura 6.5.10. Perfil de dissolução dos flavonóides quercetina (◆), luteolina (□) e 3-O-metilquercetina (▲) presentes nos CP40 obtidos na velocidade de rotação de 20 rpm

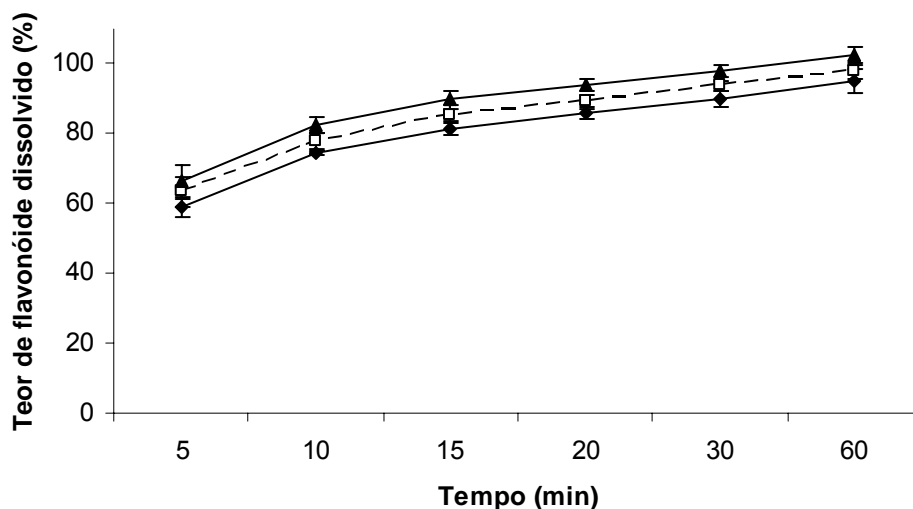


Figura 6.5.11. Perfil de dissolução dos flavonóides quercetina (◆), luteolina (□) e 3-*O*-metilquercetina (▲) presentes nos CP80 obtidos na velocidade de rotação de 20 rpm

Todos os três flavonóides das duas formulações atingiram pelo menos o teor de 85 % após 20 min de dissolução.

Em estudo prévio, estipulou-se o volume do meio de dissolução em 500 ml e a constituição do mesmo (laurilsulfato de sódio a 1,5 %; m/v). Esse volume de meio foi selecionado a fim de que as concentrações usadas fossem compreendidas na curva analítica dos flavonóides do método validado por cromatografia líquida de alta eficiência. Optou-se pelo método cromatográfico por possibilitar a quantificação seletiva dos flavonóides majoritários, bem como para avaliação qualitativa do cromatograma.

Testaram-se, preliminarmente, as concentrações de tensoativo de 0,1; 0,25; 0,5; 1,0 e, por fim, 1,5 % (m/v). A escolha foi baseada na garantia de condição *sink*. Independente da concentração testada se observou alto teor nos pontos iniciais, com posterior, declínio substancial da velocidade de dissolução, não chegando a um evidente platô. Maiores tempos de coleta não foram realizados, visto que entrariam em jogo outros aspectos, tais como a estabilidade dos constituintes no meio de dissolução devido ao tempo prolongado para análise da dissolução em CLAE.

A rápida desintegração do comprimido causa aumento do número de partículas no meio, o que, conseqüentemente, possui uma incidência direta sobre a superfície efetiva de dissolução, provocando o rápido incremento da velocidade de dissolução inicial (MARTÍN e CODINA, 1998). O declínio dessa velocidade, nos pontos finais, pode ser imputado à presença de porções do GRPSA com menor porosidade proveniente de pontos focais de altas forças compressionais, liberando, desta forma, as substâncias marcadoras de forma mais lenta. Outra possibilidade a ser considerada é a ocorrência de adsorção entre os flavonóides e os adjuvantes (ex. dióxido de silício coloidal) o que explicaria o modo gradual de liberação e a diferença persistente entre os flavonóides.

Os coeficientes de variação não excederam 11 % nos pontos iniciais e foram inferiores a 7 % nos demais pontos, cumprindo os requisitos para utilização de médias (BRASIL, 2003). As porcentagens máximas de flavonóides dissolvidos no CP40 foram de $93,9 \pm 5,4$; $95,0 \pm 3,2$ e $98,3 \pm 0,9$, respectivamente, para a quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina. O CP80 apresentou os teores máximos de $95,0 \pm 3,2$; $97,7 \pm 1,7$ e $102,5 \pm 1,6$ para a mesma seqüência de flavonóides. O teste de Dunnett ($\alpha = 0,05$) confirmou que os teores 3-*O*-metilquercetina de ambos comprimidos e a luteolina do CP80 não se diferenciam de 100 % de dissolução. Apenas a quercetina foi estatisticamente igual em ambas as formulações pelo teste *t* de *Student* ($\alpha = 0,05$) presumindo variâncias equivalentes.

Pode-se enumerar uma série de fatores para que os flavonóides não tenham alcançado o 100 % de dissolução, tais como, a amostragem de partículas em suspensão que ficam retidas no filtro (dificultada pelo menor volume), a variabilidade na uniformidade de conteúdo, embora pequena, dos comprimidos empregados, a estabilidade durante o longo procedimento de coleta até a análise por cromatografia e a ausência de coletas ulteriores.

Os cromatogramas advindos do meio de dissolução mostraram perfil semelhante ao apresentado pelos comprimidos obtidos nos testes da uniformidade de conteúdo. A resolução dos sinais permaneceu boa, bem como o coeficiente de

separação, apesar da diferença de diluente. A bichalcona, no último ponto da dissolução, apresentou 86 % do teor encontrado na análise da uniformidade de conteúdo dos CP80. A substância anterior a quercetina demonstrou igual quantificação nos CP40 já aos 20 minutos, demonstrando estabilidade durante o procedimento de dissolução, bem como rápida cedência.

A avaliação do perfil de dissolução tem uma extensa aplicação no desenvolvimento de medicamento, otimização de formas farmacêuticas, controle do processo produtivo e no estabelecimento de semelhança entre diferentes formulações. Quando o objetivo é comparar perfis de dissolução para se obter significantes conclusões é preferível avaliar múltiplos pontos ou o perfil inteiro de dissolução do que checar somente um ponto. Vários métodos para comparar perfis foram descritos, dividindo-se basicamente em dois tipos: modelo-dependente e modelo-independente (ADAMS e col., 2001; MARCOLONGO, 2003).

A eficiência de dissolução (ED%), modelo-independente, foi realizada no intervalo entre 0 e 30 min, excluindo o último ponto, com o objetivo de ser mais discriminativa. A eficiência de dissolução pode apresentar uma gama de valores dependentes do intervalo de tempo eleito, de qualquer modo, faz-se necessário estabelecer previamente o intervalo e aplicá-lo a todas as formulações (MARCOLONGO, 2003).

Os resultados da ED% indicaram semelhança entre os CP40 e CP80 uma vez que os mesmos flavonóides não diferem em ambas as formulações (tabela 6.5.6). Acredita-se que pela ED% possa se conseguir condensar um número elevado de informações e, por ser estimada a partir da área sobre a curva (igual à disponibilidade *in vivo*), possua vantagens sobre outros parâmetros comparativos (MARCOLONGO, 2003).

A avaliação da cinética de dissolução foi realizada empregando os quatro pontos iniciais devido à plena adequação ao modelo de primeira ordem para os flavonóides das formulações, como pode ser observado pelo coeficiente de

determinação (tabela 6.5.6). A análise da cinética confirma a desaceleração que ocorre na velocidade de dissolução.

Tabela 6.5.6. Caracterização dos perfis de dissolução dos flavonóides das duas formulações

Flavonóide \ Parâmetro	ED% Média ± s	r ²	Kd (ln %/min)	t _{50%} (min)
Quercetina				
CP40	38,67 ^a ± 1,71	0,9958	0,0966	7,17
CP80	40,38 ^{ab} ± 0,74	0,9803	0,0696	9,95
Luteolina				
CP40	39,53 ^{ab} ± 0,41	0,9931	0,0986	7,03
CP80	42,13 ^b ± 1,33	0,9933	0,0819	8,45
3-O-metilquercetina				
CP40	41,23 ^{ab} ± 0,61	0,9977	0,1221	5,67
CP80	42,50 ^b ± 2,98	0,9956	0,1117	6,21

Médias seguidas de mesma letra, para a mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$). r² = coeficiente de determinação; ED% = eficiência de dissolução; Kd = constante de dissolução; t_{50%} = tempo em que 50 % do teor dos flavonóides está dissolvido.

O menor tempo médio de dissolução (t_{50%}) apresentado pelo CP40 se deve, logicamente, à menor constante de dissolução (Kd). A limitação desse parâmetro para o CP80 reside no fato do cálculo de t_{50%} não levar em consideração o primeiro ponto, cujo teor de dissolução já ultrapassa 50 % para os três flavonóides. Desta forma, obtiveram-se valores calculados de t_{50%} menores do que os observados nos ensaios para o CP80.

Outro modelo-independente empregado para comparar o perfil dos flavonóides dos comprimidos das formulações foi o fator de semelhança (f2). Sua fácil aplicação e interpretação levaram os órgãos regulatórios (FDA e ANVISA) a adotá-lo (MARCOLONGO, 2003). Apenas para a quercetina e a luteolina este parâmetro foi calculado, visto que a 3-O-metilquercetina atinge rapidamente o teor de 85 % de dissolução impossibilitando seu emprego sem vieses.

O f2 foi de 57,86 para a quercetina e de 52,44 para a luteolina na comparação entre o CP40 e CP80, corroborando com os dados da ED%. Embora aceito pelos órgãos regulatórios, o valor limítrofe de 50 % é baseado no valor aceitável de variação

de 10 % entre as diferentes coletas, proveniente de experiência empírica. Ao contrário dos modelos-dependentes esse parâmetro é insensível ao formato curva ou à possibilidade de cruzamento, sendo, simplificada, a subtração entre os perfis (SHAH e col., 1998; BRASIL, 2004; MOORE e FLANNER, 1996¹).

Embora os métodos anteriormente empregados para caracterizar e avaliar os perfis de dissolução possuam vantagens, o modelo elaborado por Weibull possibilita uma comparação mais direta dos formatos das curvas. O modelo de Weibull pode ser aplicado com sucesso a quase todos os tipos de curvas de dissolução sendo largamente empregado (COSTA e LOBO, 2001; POLLI e col., 1997).

Inicialmente, avaliaram-se os perfis de dissolução dos flavonóides em ambos os PSA por meio do *software* CurveExpert. O modelo de Weibull se apresentou nas primeiras colocações no *rank* das análises realizadas devido ao elevado coeficiente de correlação (0,9999) e aos menores valores de erro padrão da estimativa ($< 0,5$). O perfil de dissolução teve a menor aderência ao modelo para a quercetina do PSA 40 ($r = 0,9990$ e $s = 1,24$). Para as formas farmacêuticas que seguem este modelo, o logaritmo da quantidade de substância ativa (flavonóide) dissolvida em função do logaritmo do tempo, será linear (COSTA e LOBO, 2001).

Dessa maneira, empregou-se a regressão linear que resultou na equação 6.2. O parâmetro de forma (b) é obtido a partir da inclinação e o parâmetro de escala (a) é estimado a partir do valor da ordenada ($1/a$) no tempo $t = 1$. O T_i (*lag time*) foi considerado zero. Os dados plotados evidenciaram não linearidade no último ponto (60 min) sendo este excluído. Houve uma considerável diminuição no coeficiente de determinação com a linearização da equação, entretanto, isto não influenciou grandemente a análise (tab. 6.5.7).

O parâmetro de forma (b) inferior a unidade descreve um formato parabólico para os perfis de dissolução, ou seja, com alta inclinação inicial e após comportamento exponencial (COSTA e LOBO, 2001). A alta inclinação inicial, provavelmente, se

¹MOORE, J.W.; FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, n. 6, p. 64-74, 1996. *Apud* MARCOLONGO (2003).

deva ao elevado ganho de área superficial no início devido à rápida desintegração que diminui com a dissolução dos marcadores e a presença de pontos focais com alta densidade (baixa porosidade) como já explicado.

Tabela 6.5.7. Caracterização dos perfis de dissolução dos flavonóides das duas formulações com o modelo de Weibull

Flavonóide	<i>a</i>	<i>b</i> (IC 95 %)	<i>T_d</i>	<i>r</i> ²
Quercetina CP40	5,100 ^a	0,518-1,004 ^a	8,51	0,9707
Quercetina CP80	2,588 ^b	0,461-0,611 ^a	5,90	0,9942
Luteolina CP40	5,309 ^a	0,636-0,960 ^a	8,09	0,9879
Luteolina CP80	2,445 ^b	0,526-0,606 ^b	4,85	0,9985
3- <i>O</i> -metilquercetina CP40	5,49 ^a	0,705-1,022 ^a	7,19	0,9950
3- <i>O</i> -metilquercetina CP80	2,87 ^b	0,640-0,760 ^a	4,51	0,9978

Coeficientes da equação da reta (intercepto *a* e inclinação *b*) com mesma letra sobrescrita, para o mesmo flavonóide, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha = 0,05$). *T_d* = tempo no qual 63,2 % do teor do flavonóide está dissolvido; *a* = parâmetro de escala (intercepto); *b* = parâmetro de forma (inclinação); *r*² = coeficiente de determinação.

O *T_d* que descreve o tempo em que 63,2 % do flavonóide está dissolvido, ao contrário do *t*_{50%}, demonstrou coerência com os primeiros pontos da curva de dissolução do CP80 visto que de fato os leva em consideração.

A comparação dos resultados de forma mais qualitativa poderia ser feita sem a necessidade de linearização, entretanto, esta possibilita a comparação entre retas já utilizadas previamente na análise granulométrica. Comparou-se então o parâmetro *a* indiretamente por meio do intercepto e diretamente o *b* que consiste na inclinação da reta. Comparou-se entre os mesmos flavonóides dos PSA. O parâmetro de forma (teste do paralelismo) foi diferente apenas para o flavanóide luteolina. O intercepto (-log γ) demonstrou diferença entre os flavonóides dos dois extratos (CHARNET e col., 1999).

O emprego do modelo de Weibull permitiu uma melhor e mais completa caracterização dos perfis de dissolução, muito embora, não seja deduzido de nenhum fundamento cinético.

Apesar das diferenças na formulação, os parâmetros de comparação entre estas, assim como os resultados da análise qualitativa, atestam a semelhança entre os perfis

de dissolução. A maior diferença entre os comprimidos reside fundamentalmente na etapa prévia de desintegração.

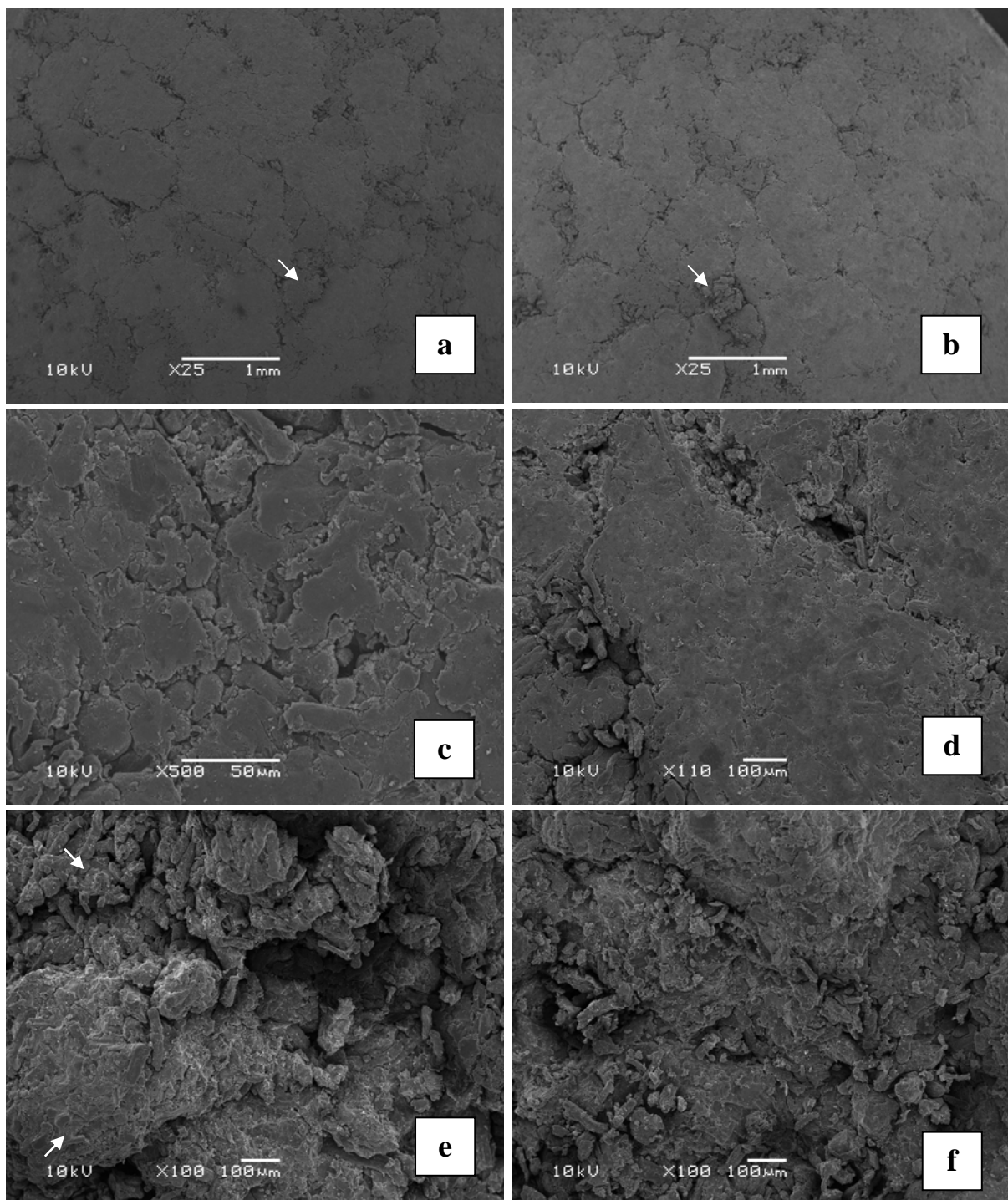


Figura 6.5.12. Fotomicrografias de comprimidos obtidos na velocidade de compressão de 20 rpm com aumento de 25x do CP40 (a), CP80 (b); aumento de 500x do CP40 (c); aumento de 110x do CP80 (d); aumento de 100x com foco na parte interna do comprimido após fratura do CP40 (e) e CP80 (f).

Não se observou distinção entre a face superior e face inferior quanto à morfologia, levando-se em consideração a percolação previamente observada. Optou-se por expor apenas as fotomicrografias da face superior para melhor comparação visual entre os CP40 e CP80 (figura 6.5.12). As fotomicrografias com aumento de 25x denotam a semelhança apresentada entre os comprimidos e possibilitam nítida visualização da junção intergranular. A clara diferenciação entre os grânulos pode ser explicada, em alguns casos, devido à presença de maior concentração de estruturas fibrilares e mais porosas, características do GRADJ (apontadas nas setas, fig. 6.5.12.a e b).

A figura 6.5.12.c mostra em detalhe o ponto de contato entre GRPSA40 e GRADJ40, permitindo evidenciar a manutenção da morfologia das partículas primárias de PSA40 e da celulose microcristalina. O CP80 apresenta a clara delimitação do GRPSA80 expressa por fissuras, aparecendo, igualmente, estruturas arredondadas planas (PSA80 achatado) e fibrilares (celulose microcristalina). Da mesma maneira que o observado por Spaniol e col. (2009), os GRADJ parecem posicionados acima do plano estimado para superfície dos granulados GRPSA nos CP40 e CP80. Essa ocorrência talvez se deva a menor densidade e resistência mecânica dos GRADJ que faz com que estes, quando na superfície e cercados por GRPSA, expandam preferencialmente axialmente.

A porção interna do comprimido não apresenta flagrante diferença do observado externamente. Pode-se diferenciar, na figura 6.5.12.e, entre o GRPSA40 (seta inferior) e o GRADJ 40 (seta superior), bem como as partículas primárias. A zona de fratura do CP80 (figura 6.5.12.f) parece apresentar menor porosidade e maior deformação por fragmentação que o CP40, no entanto, isso só poderia ter um poder preditivo caso se repetisse ao longo de toda a matriz deste e de outros compactos.

6.6 CONCLUSÕES

- A produção de comprimidos a partir de granulado de extrato seco por aspersão de *Achyrocline satureioides* provenientes de duas diferentes soluções extrativas e granulado co-processado de adjuvantes mostrou ser viável. Comprimidos com

boas propriedades mecânicas (dureza e friabilidade) com rápida desintegração e uniformidade de conteúdo foram obtidos.

- Todos os comprimidos produzidos apresentaram claros indícios de percolação que foram avaliados em programa de imagem. Os granulados co-processados de adjuvantes com maior fragmentação apresentaram maior presença, em área percentual, na face inferior dos comprimidos. Todos os comprimidos apresentaram comportamento semelhante, no entanto, a velocidade de rotação mostrou ser um fator influente neste fenômeno.
- As diferentes velocidades de rotação empregadas na máquina rotativa instrumentalizada resultaram em alteração do peso médio dos CP40, muito embora, esse fator não tenha afetado os CP80. A ausência de clarividente diferença quanto às propriedades densitométricas e reológicas dos dois complexos farmacêuticos dificultaram o encontro de uma explicação satisfatória. As condições experimentais dos métodos usados (densitometria e fluxo discreto) não levam em consideração a complexidade característica dos eventos de preenchimento da máquina de comprimir rotativa.
- As propriedades físicas e mecânicas também foram afetadas pela velocidade de rotação empregada devido ao preenchimento diferenciado da câmara de compressão (no caso do CP40) e a modificação no *dwell time* (CP40 e CP80).
- Apesar do incipiente escurecimento, longo tempo de armazenamento e as diversas etapas de produção, a uniformidade de conteúdo dos comprimidos de CF40 e CF80 obtidos na velocidade de rotação de 20 rpm atesta a estabilidade dos flavonóides marcadores (quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina) frente ao inerente estresse sofrido ao longo do processo produtivo. Outrossim, confirma a adequação da mistura e do método de extração para preparo da amostra para CLAE.
- O estudo da cedência confirmou que os CP40 e CP80 são comprimidos de rápida liberação corroborando com os dados da desintegração. Os perfis de

dissolução dos flavonóides marcadores para ambas as formulações foram semelhantes, sendo evidenciados por diferentes métodos discriminativos. O modelo de Weibull possibilitou um acréscimo informativo sobre o formato dos perfis e o T_d , oriundo deste, foi mais fidedigno aos dados que o parâmetro cinético $t_{50\%}$.

6.7 REFERÊNCIAS

ADAMS, E.; COOMANS, D.; SMEYERS-VERBEKE, J.; MASSART, D.L. Application of linear mixed effects models to the evaluation of dissolution profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, p. 101-125, 2001.

AIACHE, J.; BEYSSAC, E. Powders as dosage forms. In: SWARBRICK, J. (Ed.). **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 3rd. ed. New York: Informa Healthcare USA, 2007. v. 5, p. 2971-2982.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica nº 310 de 1º de setembro de 2004. Dispõe sobre a publicação do “Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 3.9.2004. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15466>>. Acesso em 26 jul. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Específica nº 901 de 29 de maio 2003. Dispõe sobre a publicação do Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 3.6.2003. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=1830>>. Acesso em 26 jul. 2009.

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

CHARNET, R.; FREIRE, A.D.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de Modelos de Regressão Linear com Aplicações**. Campinas: Unicamp, 1999.

CHENG, H.D.; JIANG, X.H.; SUN, Y.; WANG, J. Color image segmentation: advances and prospects. **Pattern Recognition**, v. 34, p. 2259-2281, 2001.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 2, p. 123-133, 2001.

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade da matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

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

DE SOUZA, T.P.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; PETROVICK, P.R. Compression behavior of formulations from spray dried extract. **Die Pharmazie**, v. 61, n. 3, p. 213-217, 2006.

DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P.R. Eudragit E as excipients for production of granules and tablets from *Phyllanthus niruri* L spray-dried extract. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. E1-E7, 2007.

DE SOUZA, T.P.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R. Avaliação de comprimidos revestidos por película contendo alta concentração de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 61-67, 2005.

DIAS, F.C. **Uso do software image J para análise quantitativa de imagens de microestruturas de matérias.** Dissertação (Mestrado em Engenharia e Tecnologia Espaciais) -: Curso de Pós-Graduação Engenharia e Tecnologia Espaciais/Ciência e Tecnologia de Materiais e Sensores, Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, São José dos Campos, 2008.

DIAZ, L.M.; CAL, S.; SOUTO, S.; CONCHEIRO, A.; GOMEZ-AMOZA, J.L.; MARTINEZ-PACHECO, R. Eudragit RS a major excipient in controlled release tablets for plant dry extracts. **Die Pharmazie**, v. 52, n. 6, p. 466-470, 1997.

ENDALE, A.; SCHMIDT, P.C.; GEBRE-MARIAM, T. Standardisation and physicochemical characterization of the extracts of seeds of *Glinus lotoides*. **Die Pharmazie**, v. 59, n. 1, p. 34-34, 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4. ed., São Paulo: Atheneu, 1988.

FREITAS, A. **Estrutura de mercado do segmento de fitoterápicos no contexto atual da indústria farmacêutica brasileira.** Brasília: Ministério da Saúde, Núcleo Nacional de Economia da Saúde, 2007.

GONZÁLEZ ORTEGA, G.; SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 14, n. 3, p. 173-180, 1995.

GUYOT, J.C.; ARNAUD, P.; BECOURT, P.; CASSIERE, J.P.; CHULIA, D.; DUCHÊNE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, C.; MALFROID, 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.

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

HOLDSCHIP, R.; MARAR, J.F. Compreendendo o gerenciamento de cores. In: 8º Congresso Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento em Design, 2008, São Paulo. **Anais ...** São Paulo: AEND, p. 1160-1173, 2008.

HOLZSCHUH, M. H. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteracea.** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

ICH. International Conference on Harmonisation. Q9. **Quality Risk Management.** London: EMEA, 2006. Disponível em: <<http://www.emea.europa.eu/Inspections/docs/ICHQ9Step4QRM.pdf>>. Acesso em: 8 dez. 2008.

JACKSON, S.; SINKA, I.C.; COCKS, A.C.F. The effect of suction during die fill on a rotary tablet press. **European Journal of Pharmacy and Biopharmacy**, v. 65, n. 2, p. 253-256, 2007.

JEKÖ, B.; MÁTÉ, M.; KRAUSZ, E.; BENE, M. Development and scale up of a new film coated tablet containing dry herba extract. **Die Pharmazie**, v. 54, n. 2, p. 148-150, 1999.

JIVRAJ, M.; MARTINI, L.G.; THOMSON, C.M. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. **Pharmaceutical Sciences and Technology Today**, v. 3, n. 2, p. 58-63, 2000.

LANGENBUCHER, F. Linearization of dissolution rate curves by the Weibull distribution. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 24, p. 979-981, 1972.

LENNARTZ, P.; MIELCK, J.B. Minitabletting: improving the compactability of paracetamol powder mixtures. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 173, p. 75-85, 1998.

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 vegetable spray-dried extract. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 441-446, 2000.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica.** Dissertação (Mestrado

em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2003. Disponível em: <<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9139/tde-19012004-204832>>. Acesso em: 26 jul. 2009.

MARTÍN, I. D.; CODINA, H.C. Liberación: factores farmacotécnicos. In: BERROZPE, J.D.; LANAO, J.M.; DELFINA, J.M.P. **Biofarmácia y Farmacocinética: Biofarmácia**. v. 2. Madrid: Síntesis, 1998. Cap. 14, p. 293-316.

MURAKAMI, H.; YONEYAMA, T.; NAKAJIMA, K.; KOBAYASHI, M. Correlation between loose density and compactability of granules prepared by various granulation methods. **International Journal of Pharmacy**, v. 216, p.159-164, 2001.

NUNAN, E.A.; GOMES, M.J.V.M.; REIS, A.M.M. Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos. In: GOMES, M.J.V.M.; REIS, A.M.M. **Ciências farmacêuticas: uma abordagem em farmácia hospitalar**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2001. Cap. 14, p. 251-271.

ONUNKWO, G.C.; EGEONU, H.C.; ADIKWU, M.U; OJILE, J.E.; OLOWOSULU, A.K. Some physical properties of tableted seed of *Garcinia kola* (HECKEL). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 52, n. 6, p. 649-653, 2004.

PALMA, S.; LUJÁN, C.; LLABOT, J.M.; BARBOZA, G.; MANZO, R.H.; ALLEMANDI, D.A. Design of *Peumus boldus* tablets by direct compression using a novel dry plant extract. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 233, n. 1-2, p. 191-198, 2002.

PETROVICK, P.R. **Tecnologia Farmacêutica IF**. Porto Alegre: UFRGS, 2009.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; STANLEY, P. Tensile fracture of doubly-convex cylindrical discs under diametral loading. **Journal of Material Science**, v. 23, n. 8, p. 2723-2728, 1988.

PLAZIER-VERCAMMEN, J.A.; BRUWIER, C. Evaluation of excipients for direct compression of the spray-dried extract of *Harpagophytum procumbens*. **S.T.P. Pharma**, v. 2, n. 17, 525-530, 1986.

PLAZIER-VERCAMMEN, J.A.; BOURGEOIS, A.; DE BOECK, L. Evaluation of emcocel[®] 90, a new excipient in direct compression. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 17, n. 5, p. 763-776, 1991.

POLLI, J.E.; REKHI, S. G.; AUGSBURGER, L.L.; SHAH, V.P. Methods to compare dissolution profiles and a rationale for wide dissolution specifications for metoprolol tartrate tablets. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 6, p. 690-700, 1997.

QURESHI, S.A. Tablet testing. In: SWARBRICK, J. (Ed.). **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 3. ed. New York: Informa Healthcare USA, 2007. v. 6, p. 3707-3716.

REES, J.E.; RUE, J. Time-dependent deformation of some direct compression excipients. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 30, p. 601-607, 1978.

RENOUX, R.; DEMAZIERES, 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.

RITSCHER, W.A.; BAUER-BRANDL, A. **Die tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung and Qualitätssicherung**. 2. Aufl. Aulendorf: ECV, 2002.

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, n. 6, p. 377-384, 1985.

ROCKSLOH, K.; RAPP, 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 networks. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 9, p. 1015-1025, 1999.

RUPPENTHAL, L.R.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R. Avaliação das superfícies de comprimidos com auxílio de programa de análise de imagens. In: Salão de Iniciação Científica, 19, 2007, Porto Alegre. **Programa e Resumos**. Porto Alegre : UFRGS, 2007. p. 617.

SHAH, V.P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J. In vitro dissolution profile comparison - statistics and analysis of the similarity factor, f_2 . **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 6, 1998.

SHARGEL, L.; WU-PONG, S.; YU, A.B.B.C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**. 5 ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

SINGH, S.K.; NAINI, V. Dosage forms: non-parenterals. In: SWARBRICK, J. (Ed.). **Encyclopedia of Pharmaceutical Technology**. 3. ed., New York: Informa Healthcare, 2007. v.2, p. 988-1000.

SINKA, I.C.; SCHNEIDER, L.C.R.; COCKS, A.C.F. Measurement of the flow properties of powders with special reference to die fill. **International Journal of Pharmacy**, v. 280, p. 27-38, 2004.

SINKA, I.C. MOTAZEDIAN, F.; COCKS, A.C.F.; PITT., K.G. The effect of processing parameters on pharmaceutical tablet properties. **Powder Technology**, v. 189, p. 276-284, 2009.

SOARES, L.A.L.; SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Efeito da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, p. 147-154, 2003.

SOARES, L.A.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; SCHMIDT, P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E359-366, 2005.

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

SPANIOL, B.; BICA, V.C.; RUPPENTHAL, L.R.; VOLPATO, M.R.; PETROVICK, P.R. Compressional behavior of a mixture of granules containing high load of *Phyllanthus niruri* spray-dried extract and granules of adjuvants: comparison between eccentric and rotary tablet machines. **AAPS PharmSciTech**, v. 70, p. 1013-1023, 2009.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 27. rev. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 2004.

TWITCHELL, A. Mistura. In: AULTON, M.E. (Ed.). **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 13, p. 192 – 207.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. Tablets of hamamelis dry extract by direct compression: comparative study of natural starches and starch derivatives. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 11, p. 1357-1368, 1993.

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

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie für Studium und Beruf**, 10. überarb. Aufl., Stuttgart: Deutscher Apotheker, 2005.

WAGNER, K.G.; KRUMME, M.; SCHMIDT, P.C. Investigation of the pellet-distribution in single tablets via image analysis. **European Journal of Pharmacy and Biopharmacy**, v. 47, p. 79-85, 1999.

WU, C.Y.; DIHORU, L.; COCKS, A.C.F. The flow of powder into simple and stepped dies. **Powder Technology**, v. 134, p. 24-39, 2003.

7 CAPÍTULO 6: ISOTERMAS DE SORÇÃO E DESSORÇÃO DE UMIDADE

7.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

As propriedades físicas, físico-químicas e químicas dos sólidos farmacêuticos são criticamente dependentes da presença de umidade, sendo fundamental uma caracterização da interação entre água e o sólido (KONTNY e ZOGRAFI, 1995).

A higroscopicidade constitui um dos maiores entraves tecnológicos na produção de fitoterápicos como formas farmacêuticas sólidas. A sorção de umidade modifica as propriedades mecânicas e reológicas de extratos secos vegetais, bem como influencia a estabilidade e compatibilidade dos componentes ativos. A alta concentração de compostos orgânicos, tais como sacarídeos e aminoácidos, aliada à presença de água livre torna os extratos vegetais especialmente susceptíveis à contaminação por microorganismos (ENDALE e col., 2004; SOARES, 2002; DE SOUZA, 2004; COUTO, 2000; HEBERLÉ, 2000; LIST e SCHMIDT, 1989). Além disso, a presença de estruturas amorfas, especialmente, em extratos secos oriundos de torre de secagem por aspersão (PSA) ou liofilizadores, pode resultar em uma expressiva absorção de umidade em ambientes sem um rígido controle higrométrico. Diante do exposto é de prima importância a avaliação das características de sorção e dessorção de umidade de extratos vegetais secos e de seus produtos derivados.

7.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Comparar o comportamento de dois extratos secos por aspersão, granulados (fase interna, contendo os PSA, e externa composta por granulado co-processado de adjuvantes) e comprimidos quanto às características de sorção e dessorção em diferentes condições de umidade ambiental.

7.3 REVISÃO DO TEMA

A velocidade e extensão da sorção de umidade num sólido quando exposto ao vapor de água é comumente referida como higroscopicidade. Uma definição precisa de higroscopicidade ainda está ausente já que existe uma gama variada de níveis e efeitos nos quais a umidade pode afetar as propriedades dos sólidos (CARSTENSEN, 2001).

Quando uma partícula é exposta a uma dada umidade relativa (UR) poderá ocorrer adsorção do vapor na superfície, absorção, dessorção, deliquescência, eflorescência e formação de hidrato. A absorção ocorre no interior da mistura pulveréa quando a mistura é amorfa, enquanto que a interação ficará limitada à adsorção quando o pó é cristalino (BUCKTON, 2005). Na presença de partículas com partes amorfas e cristalinas o termo sorção é mais adequado. Igualmente, a solubilidade e a sensibilidade à água são outros fatores a serem considerados.

A quantidade de umidade sorvida por sólidos amorfos é tipicamente maior que a de substâncias cristalinas não hidratadas. Um número elevado de adjuvantes poliméricos farmacêuticos de amplo emprego apresenta um percentual alto de estruturas amorfas, tais como celuloses, amido, povidona e gelatina. O modo de secagem pode também resultar em amorfização como no caso da secagem por *spray drier* e a liofilização (ex. proteínas), bem como a operação de cominuição. Da mesma forma, o efeito plastificante da umidade nos sólidos amorfos é digno de nota visto que o abaixamento da temperatura de transição vítrea pode resultar em maior mobilidade, alinhamento molecular e por fim cristalização. Outra distinção se refere à possível presença de água ligada ou de hidratação dentro do retículo cristalino normalmente numa razão molar exata. Elevado percentual de água ligada pode estar presente em estruturas cristalinas e resulta, muitas vezes, em mudanças das propriedades físicas e biofarmacêuticas quando comparada às formas anidras. A pressão de vapor da água ligada é menor, sendo sua remoção mais difícil por evaporação (AULTON, 2005; BUCKTON, 2005; CARSTENSEN, 2001; FLORENCE e ATTWOOD, 2003).

Uma maneira de avaliar a higroscopicidade ou atividade de água de uma amostra é por meio de isotermas de sorção e dessorção. Esta isoterma representa a quantidade de água retida ou liberada pela amostra em função da UR do ambiente que o cerca sob temperatura constante (DÍAZ, 1992). Muito embora se possam utilizar equipamentos especiais (ex. tensiômetros ou balanças analíticas dentro de câmaras climáticas) que possibilitam avaliação dinâmica ou estática da sorção e dessorção, o modo, mormente, utilizado é por exposição da amostra, em dessecadores contendo soluções saturadas. Esse método, embora mais moroso e descontínuo, permite o

emprego de várias amostras ao mesmo tempo. As soluções saturadas de solutos possibilitam a obtenção de isotermas com UR constante numa ampla faixa. Apesar de soluções insaturadas (ex. ácido sulfúrico) poderem ser empregadas, estas podem alterar sua concentração durante a sorção ou dessorção das amostras o que pode afetar a UR no dessecador (SOARES, 2002; DITCHFIELD, 2000).

Petrovick (2006) usando isoterma de sorção estática a 65 % e 99 % de UR de granulado contendo alto teor de extrato seco por aspensão oriundo de solução extrativa hidroalcoólica a 40 % (GRPSA40 e PSA40) de *Achyrocline satureioides* constatou estabilização dos valores a partir do primeiro dia na UR de 65 % sem alteração de características sensoriais. Para UR de 99 %, no entanto, não verificou estabilização da sorção dos pós e granulados, resultando em maior escurecimento dos mesmos. O granulado apresentou apenas um diminuto efeito protetor nas UR usadas quando comparado ao PSA40.

Heberlé (2000) e Couto (2000) observaram, respectivamente, em PSA de *Cecropia glazioui* e em granulados de PSA de *Phyllanthus niruri* o aparecimento de fungos sob 99 % de UR, respectivamente, no sétimo e nono dia. Heberlé evidenciou alteração na coloração e na textura do extrato após cinco dias de exposição sob UR de 70 % e 99 %. Embora constituído de granulado de PSA, o escurecimento decorrente da UR de 99 % foi visível para Couto a partir do primeiro dia de exposição. Da mesma forma que o relatado por Petrovick (2006), Heberlé e Couto não evidenciaram, nos seus respectivos produtos, tendência à estabilização até o sétimo dia na UR de 99 %. Nos ambientes artificiais com UR de 70 % e de 65 %, respectivamente, empregados nos trabalhos de Heberlé e Couto a sorção se manteve constante a partir do primeiro dia, enquanto sob UR de 26 % e 45 % uma situação de equilíbrio foi alcançada imediatamente. Tal comportamento demonstra a semelhança entre os mecanismos de sorção oriundo do mesmo método de secagem, a despeito das inúmeras outras variáveis divergentes.

Couto (2005) produziu compactos com diferentes forças compressionais a partir de granulados co-processados padronizados de adjuvantes (fase externa) que foram

submetidos a estudo de isothermas de sorção em UR de 99 %. As formulações foram constituídas de composição binária de celulose microcristalina e desintegrante (amidoglicolato de sódio, croscarmelose e crospovidona) em três diferentes concentrações ponderais de 12,6 %; 37,9 % e 63,1 %. A fim de avaliar o efeito da presença de desintegrante, granulados constituídos exclusivamente de celulose microcristalina foram comprimidos. A presença do desintegrante e o aumento de sua concentração provocaram marcante efeito sobre a sorção de umidade dos compactos. A diminuição da porosidade oriunda do aumento da pressão compressional não proporcionou decréscimo na sorção dos compactos constituídos de desintegrante croscarmelose ou amidoglicolato de sódio. A partir dos dados da literatura e levando em consideração a proporção ponderal dos constituintes, Couto calculou o valor teórico de sorção de umidade em equilíbrio com a UR de 99 %. Os dados revelaram que os granulados constituídos de amidoglicolato de sódio ou croscarmelose demonstraram maior umidade que o previsto, marcadamente, nas maiores concentrações. Tal fato decorre do possível sinergismo entre a mistura binária e/ou efeito do processo de granulação por via úmida.

7.4 PARTE EXPERIMENTAL

7.4.1 Materiais

Os produtos secos por aspersão a partir de soluções extrativas de *A. saturoioides* (PSA40 e PSA80) utilizados neste trabalho foram obtidos, respectivamente, dos trabalhos de Petrovick (2006) e Holzschuh (2008). Os granulados co-processados de adjuvantes (GRADJ9%DIS), os granulados contendo os PSA (GRPSA40 e GRPSA80), assim como os comprimidos constituídos pelos GRADJ e GRPSA (CP40 e CP80) foram obtidos como descrito, respectivamente, nos itens 5.4.3.5.1; 4.4.3.1 e 6.4.3.3. Os solutos carbonato de potássio anidro (p.a., Nuclear, São Paulo/Brasil), nitrito de sódio (97 % de pureza, Nuclear); cloreto de sódio USP (p.a., Nuclear, São Paulo/Brasil); brometo de potássio (99 % de pureza, Vetec, Rio de Janeiro/Brasil); sulfato de zinco (99-103 % de pureza, Reagen, Rio de Janeiro/Brasil) e fosfato de sódio dodecaidratado (pureza de 97 %, Nuclear, São Paulo/Brasil) foram empregados na preparação das soluções saturadas, com resíduo, para obtenção de UR constante no

dessecador. No processo de dessorção inicial e final se utilizou gel de sílica azul 4 a 8 MM (fornecido por ALZlaboratórios, Porto Alegre/Brasil).

7.4.2 Equipamentos¹, acessórios e correlatos

Agitador Magnético IKA RH basic1;

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

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)¹;

Dessecadores de vidro de 5 litros;

Estufa de secagem Biomatic 1305;

Termo-higrômetro digital TFA;

7.4.3 Métodos

7.4.3.1 Comportamento higroscópico dos produtos intermediários e finais

Pesou-se, em triplicata, cerca de 1,5 g de PSA40, PSA80, GRADJ9%DIS e, aproximadamente, 1,0 g de GRPSA40 e GRPSA80 em pesa-filtros. Igualmente em triplicata, foram postos em cada frasco-ampola 3 comprimidos de CF40 e CF80 oriundos das diferentes rotações empregadas na máquina de comprimir, conforme descrito no item 6.3. As amostras foram dispostas em dessecador com gel de sílica durante 7 dias a fim de iniciar a isoterma de sorção com níveis basais de umidade.

A partir de amostras com dessorção estabilizada sobre gel de sílica, estas foram submetidas a ambiente com UR e temperatura controladas (25 ± 2 °C) em dessecador com soluções saturadas. Obtiveram-se os vários ambientes por meio das soluções aquosas saturadas com precipitado de carbonato de potássio, nitrito de sódio, cloreto de sódio, brometo de potássio, sulfato de zinco e fosfato de sódio dodecaidratado. Empregou-se água destilada. Pesa-filtros e ampolas vazios foram utilizados a fim de se obter a influência do recipiente na sorção e dessorção. A tabela 7.4.3.1 sintetiza o experimento.

¹ O autor agradece à Unidade citada pela disponibilização do equipamento.

Dois dessecadores foram empregados para que houvesse pelo menos um dia de estabilização da UR da solução saturada. Todas as amostras foram submetidas simultaneamente à seqüência experimental descrita na tabela 7.4.3.1 para que se pudesse obter uma comparação sob as mesmas condições. A UR e a temperatura foram monitoradas por termo-higrômetro digital que possui faixa determinação de umidade de 20 a 95 % com desvio de 5 % entre a faixa 40 a 80 % UR.

Tabela 7.4.3.1. Procedimento seqüencial da isoterma de sorção-dessorção e soluções saturadas empregadas.

Período (dia)	UR (%) \pm s Termo-higrômetro	Solução saturada	UR (%) Literatura
1-7		gel de sílica	5-10 (AULTON, 2005)
7-8	45 \pm 1,0	K ₂ CO ₃	43,0 (ROCKLAND, 1960)
9-10	62 \pm 1,0	NaNO ₂	64,3 (LABUZA, 1983) ²
11-12	75 \pm 0,5	NaCl	75,0 (DITCHFIELD, 2000)
13-14	80 \pm 0,5	KBr	81,3 (DITCHFIELD, 2000)
15-16	85 \pm 1,0	ZnSO ₄	88,0 (ROCKLAND, 1960) ³
17-18	91 \pm 1,0	Na ₃ PO ₄ · 12H ₂ O	97,0 (ROCKLAND, 1960) ²
19-20	85 \pm 1,0	ZnSO ₄	
21-22	80 \pm 0,5	KBr	
23-24	75 \pm 0,5	NaCl	
25-26	62 \pm 1,0	NaNO ₂	
27-28	45 \pm 1,0	K ₂ CO ₃	
29-36		gel de sílica	

Ao final do procedimento se realizou a perda por dessecação das amostras conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira (1988).

² LABUZA, T.P. Standard procedure for isotherm determination. **Cereal Foods World**, v. 28, n. 4, p. 258, 1983. *Apud* DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para a medida da atividade de água**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2000.

³ ROCKLAND, L.B. Saturated salt solutions for static control of relative humidity between 5 ° and 40 °C. **Analytical Chemistry**, v. 32, n. 10, p. 1375-1376, 1960. *Apud* DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para a medida da atividade de água**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2000.

7.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da umidade basal dos PSA, GRPSA e GRADJ obtidos se mostraram adequados para o início do procedimento de sorção. Idealmente se deve começar a sorção com materiais com umidade próxima a zero, no entanto, para tal, muitas vezes, é necessário o emprego de temperatura que pode alterar as características físicas e físico-químicas, gerando resultados enganosos. COUTO (2005) empregou gel de sílica a fim de avaliar a dessorção do material, procedimento que se mostrou adequado inclusive para dessecar os compactos antes de submetê-los a sorção. Além disso, estando o primeiro ponto na UR de 45 %, relativamente alto e distante do apresentado pelo gel de sílica, a sorção ocorreria naturalmente.

Comparando os resultados de perda por dessecação dos PSA antes da secagem prévia com gel de sílica, observa-se um decréscimo em cerca de metade nos seus valores originais. Não obstante os PSA já estarem armazenados em potes dentro de dessecadores contendo gel de sílica por longo tempo, a exposição direta permitiu uma maior perda de umidade. O mesmo se pode verificar para os GRADJ, GRPSA e comprimidos. Notadamente, os menores valores de umidade foram verificados no PSA80 e seus derivados. Alta variabilidade na perda por dessecação se deve a diferença na dessorção de umidade no gel de sílica e não ao processo de perda por dessecação.

Tabela 7.5.1. Teor de umidade de pós e granulados após a desumidificação com gel de sílica na parte inicial e final do estudo

Amostras	Perda por dessecação (%) início do estudo	Perda por dessecação (%) após a dessorção
PSA40	3,16 ^a ± 0,20	2,70 ^a ± 0,22
PSA80	1,56 ^a ± 0,32	1,33 ^a ± 0,15
GRPSA40	2,42 ^a ± 0,23	2,56 ^a ± 0,25
GRPSA80	1,84 ^a ± 0,27	1,86 ^a ± 0,14
GRADJ	2,58 ^a ± 0,25	2,56 ^a ± 0,24
CP40	1,83 ^a ± 0,14	2,42 ^b ± 0,09
CP80	1,38 ^a ± 0,08	1,93 ^b ± 0,05

Médias seguidas pela mesma letra, nas linhas, não diferem pelo teste *t* de Student ($\alpha = 0,05$) considerando variâncias equivalentes após análise do teste de F.

Os resultados relativos ao teor de umidade das amostras expostas ao gel de sílica durante sete dias após o ciclo sorção-dessorção (tabela 7.5.1), quando comparados ao prévio procedimento ao dessecante, foram indistintos entre os granulados, apresentando uma pequena diferença entre os PSA, embora não estatisticamente significativa. Não obstante, os comprimidos apresentaram uma diferença significativa entre ambos os períodos, talvez por se tratar de um monólito de maior dimensão com menor porosidade o que torna a dessorção em gel de sílica mais lenta e incompleta. Outrossim, a menor variabilidade amostral dos comprimidos permitiu uma melhor diferenciação estatística entre o teor de umidade dos períodos.

O valor de UR empregado nas curvas foi o determinado no termo-higrômetro digital, exceção feita aos pontos fora da faixa de maior precisão 40 - 80 % que apresentam valores dissonantes da literatura. Para esses foram considerados os valores obtidos da revisão de Ditchfield (2000) apresentados na tabela 7.4.3.1, uma vez que os valores dentro da faixa (40 - 80 % UR a 25 °C) apresentaram grande similaridade. Os pesa-filtros e os frasco-ampolas vazios demonstraram ausência da influência dos recipientes na sorção e dessorção, sendo estatisticamente semelhantes, gravimetricamente, ao longo das UR usadas. O teor de umidade estabelecido nos estudos de sorção e dessorção levou em consideração a umidade residual inicial das amostras, determinada por perda por dessecação ao final de todo o procedimento experimental. Embora a perda por dessecação não seja específica para a determinação de água, pois inclui também a perda de outras substâncias voláteis, a baixa concentração de óleos voláteis nas amostras permite o emprego desta suposição (LABUCKAS e col., 1999). A possível adsorção de água de hidratação não pode ser avaliado por Karl Fischer uma vez que todas as amostras foram empregadas na perda por dessecação ao final do experimento.

O método utilizado não teve como objetivo alcançar o equilíbrio hídrico nos pontos da curva, sendo, neste aspecto, similar à avaliação dinâmica de alguns equipamentos (SOARES, 2002). Entretanto, garante a presença de curvas de sorção e dessorção equitemporais em todas as amostras. Dessa maneira, permite uma avaliação

preliminar e comparativa da higroscopicidade das amostras. A aplicação de sorção e a subsequente dessorção nas amostras permitiu obter a histerese.

Durante o experimento nenhum sinal de contaminação ou de evidente degradação foi observado por meio da avaliação das propriedades organolépticas. Não obstante, pode-se verificar a formação de aglomerados nos PSA40 e PSA80 durante a sorção e dessorção (fig. 7.5.1). Tal alteração já propicia agravamento das deficiências tecnológicas destes pós e não foi notada nos granulados. Da mesma forma, para os comprimidos empregados no estudo nenhuma modificação da suas características sensoriais foi evidenciada. A ausência de escurecimento e contaminação microbiológica advinda da umidade (visualizado em outros trabalhos semelhantes) se deve, em parte, ao baixo tempo de exposição dos PSA e seus derivados a UR elevadas (HEBERLÉ, 2000; COUTO, 2000; PETROVICK, 2006).

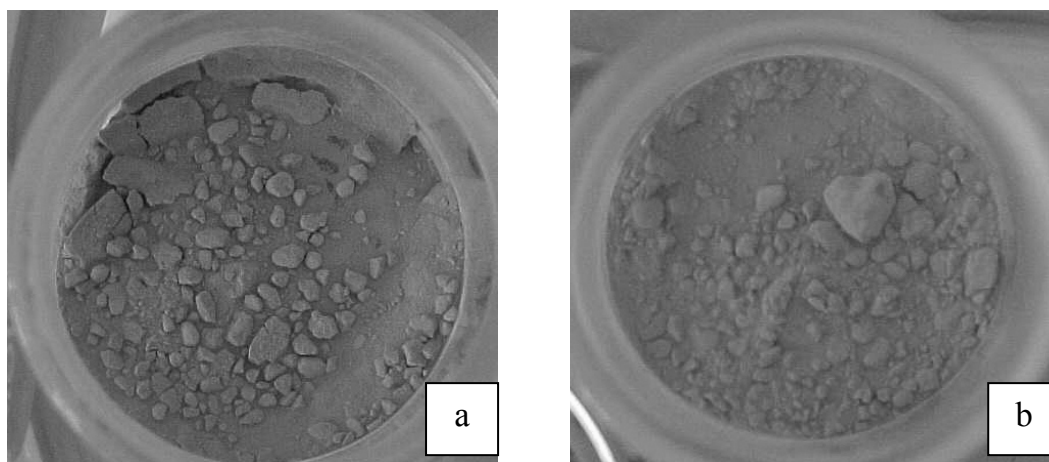


Figura 7.5.1. Formação de aglomerados dos PSA40 (a) e PSA 80 (b) em pesa-filtros observados durante o estudo de higroscopicidade.

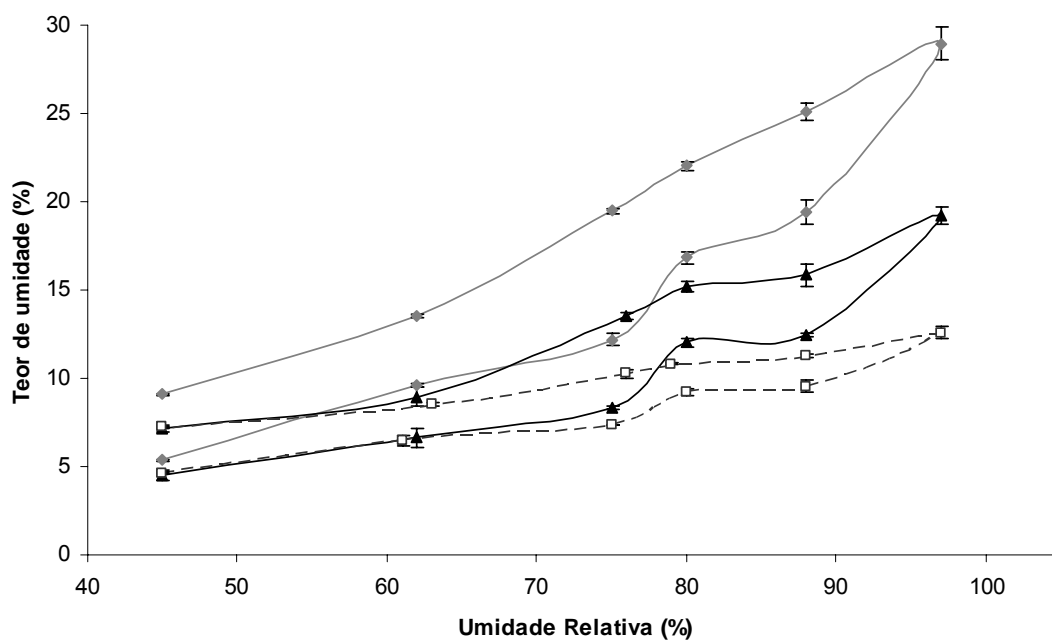


Figura 7.5.2. Comportamento de amostras de PSA40 (◆), GRPSA40 (▲) e GRADJ (□) em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.

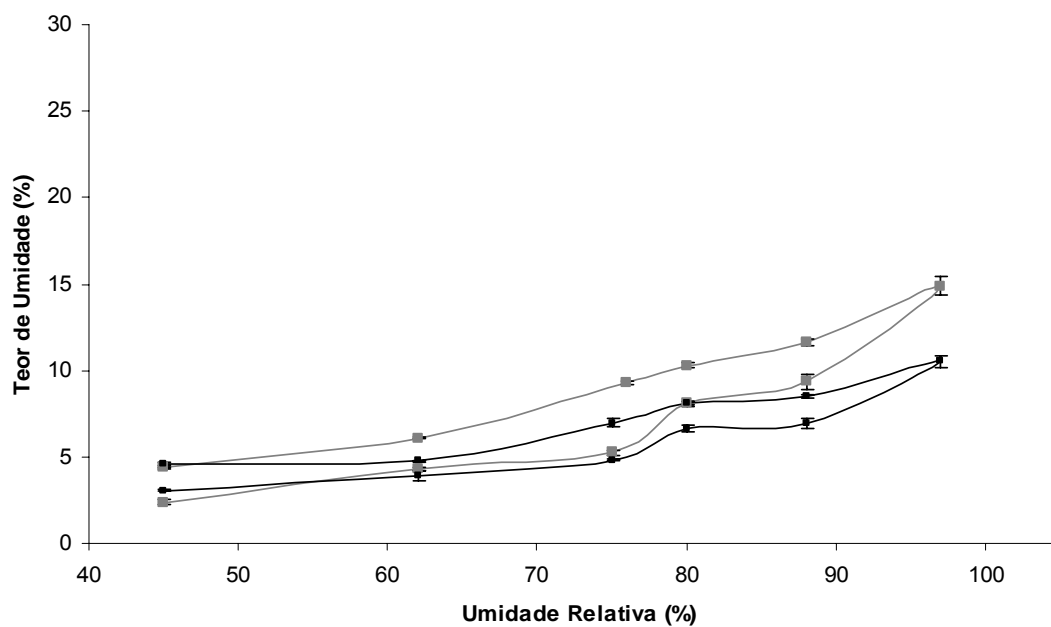


Figura 7.5.3. Comportamento de amostras de PSA80 (■) e GRPSA80 (●) em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.

As figuras 7.5.2 e 7.5.3 mostram a presença de histerese em todas as amostras particulares. Os maiores percentuais de umidade ao longo da curva sorção - dessorção foram referentes ao PSA40 e ao seu granulado. Igualmente, a histerese nessas partículas foi mais acentuada. Constata-se um pequeno efeito protetor do GRPSA40 comparativamente ao PSA40. De acordo com os dados precedentes (itens 2.5 e 4.5), os GRPSA apresentaram por método de B.E.T. (*Multipoint e Single point*) maior área superficial específica que o PSA contrapondo a explicação de que a proteção pudesse ser devida à diminuição da superfície de contato ao vapor de água. Há de se ressaltar a diferença entre área superficial obtida por B.E.T., que emprega misturas gasosas de hélio e nitrogênio inertes, com o vapor de água que possui mais fortes ligações intermoleculares e não apenas por meio de fenômenos de adsorção, mas também de absorção, principalmente, em partículas amorfas. Apesar disso, a adição de adjuvantes parece ser a explicação mais plausível para a diferença entre os comportamentos dos PSA e GRPSA.

A presença de estearato de magnésio e dióxido de silício pode, respectivamente, aumentar a hidrofobia e encobrir o PSA40, diminuindo a sorção de umidade (LIST e SCHMIDT, 1989). A menor sorção de umidade da celulose microcristalina, que representa 28 % (m/m) da formulação de GRPSA40 quando comparada ao PSA40, pode ser confirmada pelos resultados do GRADJ. O GRADJ, constituído predominantemente de celulose microcristalina, apresentou menor sorção e histerese quando comparadas ao PSA40 e GRPSA40. O amidoglicolato de sódio, sendo um superdesintegrante, possui alto poder de sorção de umidade e está presente nos granulados. Couto (2005) apresentou resultados que demonstram que a presença destes dois componentes em granulados produzidos por via úmida pode potencializar a sua higroscopicidade. Apesar disso, a baixa concentração de amidoglicolato de sódio atenua o seu efeito global, bem como seu possível sinergismo.

A proteção do processo de granulação sobre o PSA80 foi menos evidente, sendo notável nas maiores UR. Uma pequena digressão sobre a proteção advinda da granulação deve ser feita. Diferentemente do PSA, que é constituído homogeneamente de extrato seco de *Achyrocline satureioides* e dos adjuvantes polissorbato 80 e dióxido

de silício coloidal, o GRPSA e GRADJ podem mostrar efeitos de sorção e dessorção de forma desigual dentro de cada partícula, em face da heterogeneidade de composição. Tal fato acarretará em maior ou menor proteção ao PSA ou a outro adjuvante dependendo do percentual de teor de umidade que lhe cabe.

Os PSA40 e PSA80 se diferenciam quanto à composição, devido às distintas propriedades dos solventes de extração. Solventes mais polares resultam em maior concentração de polissacarídeos, açúcares simples, ácidos fenólicos e sais minerais que naturalmente favorecem a maior sorção do PSA40 (SANTOS, 1996; DE SOUZA, 2002). O maior percentual de polissacarídeos patrocina, principalmente, a absorção o que explica a maior histerese neste extrato seco. A maior área superficial específica do PSA40, da mesma forma, contribui para essa diferença. Os flavonóides, grupo de compostos naturais com estrutura fenólica que podem interagir por ligações de hidrogênio com as moléculas de água, não mostraram, no conjunto, substancial diferença de teor entre os PSA. Igualmente, deve se destacar a distinta origem da planta *Achyrocline satureioides* entre os PSA que, por sua vez, pode contribuir para uma fitoquímica diferenciada.

A distinção entre o formato da curva de sorção e dessorção é digna de nota para os PSA40 e PSA80. A sorção apresenta um comportamento em formato sinuoso e a dessorção um comportamento bem descrito pela regressão linear para o PSA40 ($r = 0,9946$) e PSA80 ($r = 0,9795$). A diferença se faz evidente entre os pontos correspondentes às UR de 75 % e 88 %. Essa diferença de formato e das áreas de histerese pode ser explicada pela manutenção da umidade por absorção, dissolução parcial dos constituintes, causando aumento da viscosidade e diminuição da atividade da água, e a possível modificação das estruturas, por exemplo, devidas à alteração da cristalinidade advindas do efeito plastificante da água. Outra explicação reside na teoria da incompleta molhagem, a qual sugere variação do ângulo de contato entre o sólido e o líquido na sorção e dessorção (AL-MUHTASEB e col., 2002). Não se pode descartar também a possibilidade de alterações de ordem química nos componentes dos extratos secos embora não se tenham observado evidências a este respeito.

Soares (2002) empregando sorção dinâmica de umidade para os produtos secos por aspersão de *Maytenus ilicifolia* pode visualizar o fenômeno de histerese em baixas UR, sendo possível notar inversão da isoterma no ponto de 30 % de UR. Tal fenômeno não pode ser observado no presente trabalho, talvez devido à faixa de UR empregada que abarca maiores valores. A faixa de UR eleita compreendeu valores de condições normais de armazenamento até situações adversas, comumente, encontradas em países com clima tropical úmido.

Os GRPSA da mesma forma apresentaram histerese, mas o formato da curva de sorção e dessorção foram indistintos entre si. Mostraram também similaridade com o formato da curva de sorção dos PSA. Um elemento que acresce complexidade nos granulados é a porosidade, que permite que o efeito da condensação no capilar coopere na sorção de umidade de forma mais intensa. A diferença entre a sorção e dessorção nos granulados pode ser atribuída ainda à presença de grandes poros com pequena abertura externa e/ou “sifonados” (AL-MUHTASEB e col., 2002).

Soares (2002) também obteve para as isotermas de sorção do PSA de *Maytenus ilicifolia*, usando tensiômetro Krüss-K121, um formato muito parecido ao deste trabalho. Assim como aqui apresentado, observam-se variações na inclinação da curva de sorção com duas zonas de rápida sorção entremeadas por zona com lenta sorção. A composição dos extratos pode explicar esse perfil. Nos valores de UR baixa e intermediária os biopolímeros são os principais responsáveis pela sorção de umidade, sendo limitada em parte pela sua área superficial. Contudo, em altas UR entra em jogo uma mais efetiva participação de açúcares e moléculas de baixo peso molecular o que explicaria a maior sorção nos últimos pontos (AL-MUHTASEB e col., 2002).

Dado interesse na estabilidade dos alimentos, estudos de isotermas de sorção e dessorção são amplamente difundidos e realizados. Devido à complexidade dos alimentos e a composição, muitas vezes, comparável aos medicamentos fitoterápicos, a ampla literatura nesta área pode ser de grande valia para tecnologia de fitoterápicos (AL-MUHTASEB e col., 2002; FENNEMA, 1996).

Geralmente, os alimentos apresentam isotermas de sorção com comportamento sigmoidal, entretanto, na presença de alta concentração de açúcares e de outras pequenas moléculas solúveis, com baixa concentração de polímeros, exibem formato tipo J, ou seja, baixa sorção na porção inicial e intermediária das isotermas com alta sorção nos níveis mais altos de UR. Estudos em produtos alimentícios demonstraram também que a dessorção, quando comparada com a sorção na mesma UR, causa maior instabilidade microbiológica e química, provavelmente, advinda do maior percentual de água livre disponível (FENNEMA, 1996).

Outra explicação para o formato da curva de sorção da umidade das amostras reside na área superficial e na formação de uma monocamada com subseqüentes camadas de umidade de diferentes entalpias. Para obtenção dos parâmetros que descrevem a sorção e dessorção de umidade, os modelos de B.E.T. e, principalmente, de GAB são freqüentemente utilizados (ARSLAN e TOGRUL, 2006; AL-MUHTASEB e col., 2002). A aplicação destes modelos fica limitada devida à ausência da garantia quanto ao teor de umidade de equilíbrio nas UR usadas, bem como à possível presença de absorção e à dissolução parcial dos constituintes, que afetam fortemente os seus resultados.

A forma farmacêutica sólida final, o comprimido, também foi objeto deste estudo. Avaliou-se igualmente a influência da velocidade de produção dos mesmos sobre as características de sorção e dessorção. Outros atributos dos compactos variaram com a modificação da velocidade de rotação da máquina de comprimir, especialmente, para os comprimidos de CF40 cujo peso médio foi muito sensível a este parâmetro de produção (item 6.5). A hipótese de que em maiores velocidades de rotação haveria formação de ligações mais efetivas na superfície do compacto que explicaria a menor friabilidade apresentada nestes comprimidos e que poderia também afetar a sorção de umidade foi averiguada (SPANIOL, 2007). Igualmente, o efeito da rotação na plasticidade e, por sua vez, na efetividade das ligações interparticulares que, muitas vezes, afeta a porosidade e a área superficial pode ser perscrutada pela curva de sorção e dessorção.

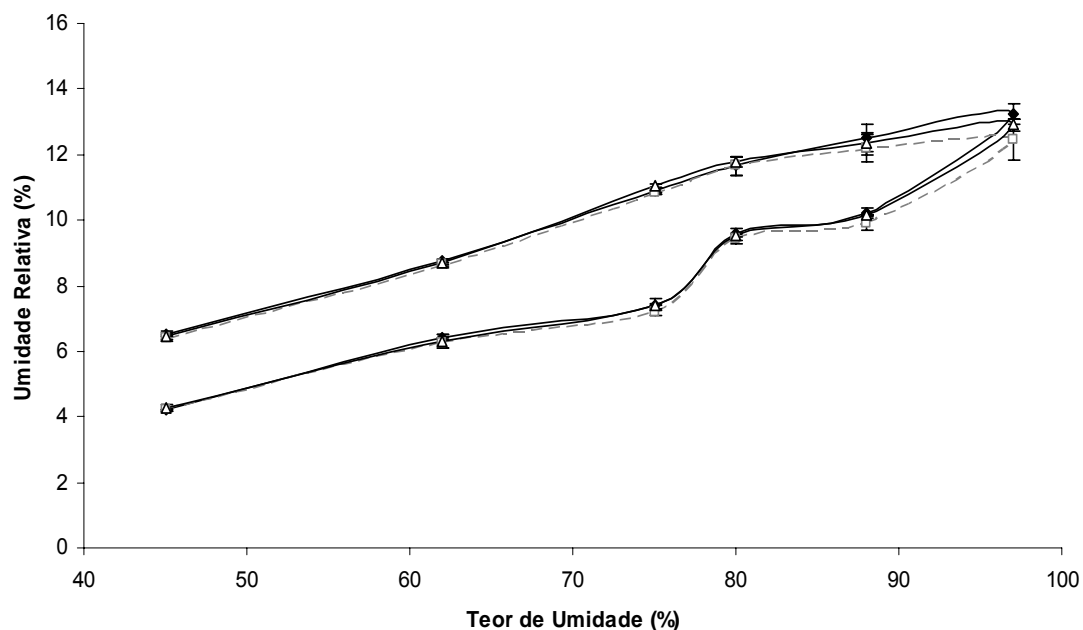


Figura 7.5.4. Comportamento de amostras comprimidas de CF40, obtidas em três velocidades de rotação da máquina de comprimir rotativa (◆ = 10; □ = 20 e △ = 30 rpm) em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.

Os perfis higroscópicos dos comprimidos das figuras 7.5.4 e 7.5.5 são similares aos perfis dos seus PSA constituintes, tanto no formato quanto na histerese. Tal fato demonstra que o acréscimo de adjuvantes e de variações no processo de compressão não alterou o mecanismo de sorção e dessorção de umidade. Além disso, a presença de curvas sobreponíveis entre os comprimidos obtidos de diferentes velocidades de rotação atesta a pequena influência desta variável na higroscopicidade dos mesmos, a despeito do efeito da mesma sobre a friabilidade e porosidade (item 6.5).

A transformação em comprimidos propiciou uma maior proteção à umidade, embora ainda pequena, quando comparada aos granulados e principalmente aos PSA de origem. O menor percentual de PSA na sua constituição justifica esse comportamento. A fim de se obter comprimidos viáveis de extratos secos vegetais higroscópicos, tais como os do presente trabalho, se deve pensar em modificações da formulação, estudos de escolha da embalagem primária e revestimento com polímeros hidrossolúveis que bloqueiem a sorção de água sem prejudicar as suas propriedades biofarmacêuticas e a sua biodisponibilidade.

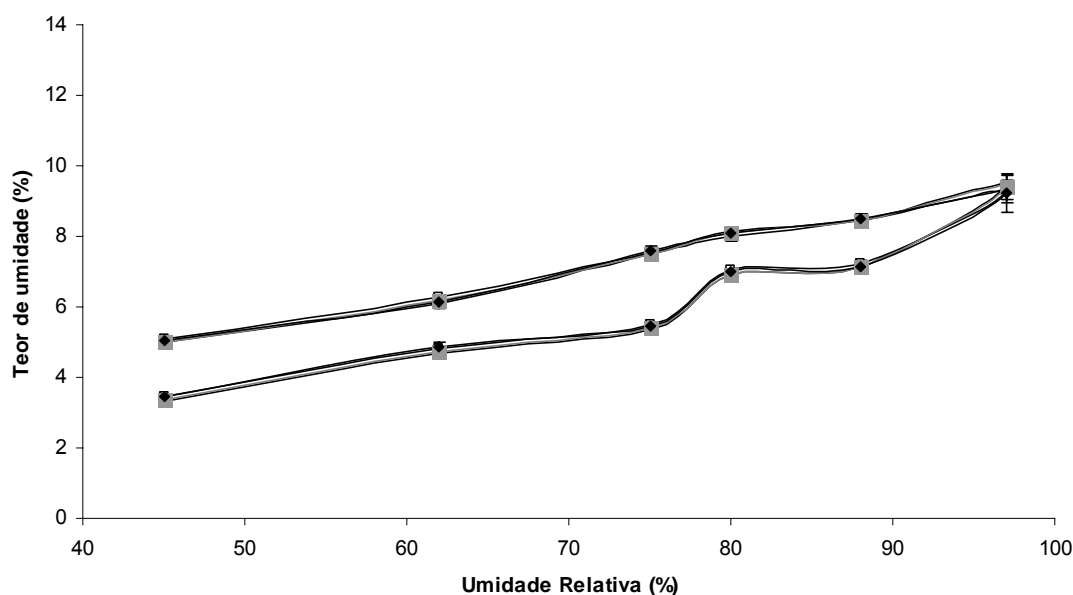


Figura 7.5.5. Comportamento de amostras comprimidas de CF80, obtidas em quatro velocidades de rotação da máquina de comprimir rotativa (□ = 5; ◇ = 10; ■ = 20 e ◆ = 30 rpm) em função do ciclo de exposição a diferentes umidades relativas ambientais.

7.6 CONCLUSÕES

- Os PSA demonstraram comportamento tipicamente higroscópico com presença de histerese. Os perfis de sorção apresentaram formato sinuoso, enquanto a dessorção apresentou um comportamento aproximadamente linear, principalmente, no PSA80. A maior higroscopicidade do PSA40 se deve, provavelmente, à extração com solução de maior polaridade.
- Dentre os granulados, o GRADJ, granulado de fase externa, demonstrou a menor sorção de umidade, muito embora, ainda elevada. Tal fato se deve à presença de derivados de celulose e amidoglicolato de sódio no GRADJ que possuem estrutura molecular poli-hidroxilada, bem como percentual elevado de regiões amorfas.
- Os granulados GRPSA40 e o GRPSA80 apresentaram pequeno efeito protetor quando comparado aos seus respectivos PSA, sendo que a presença dos adjuvantes e a granulação parecem não ter promovido a modificação dos mecanismos de sorção e dessorção.

- Assim como os granulados, os comprimidos não proporcionaram efeito protetor com relação à umidade. A variável do processo de compressão, velocidade de rotação, não resultou em mudança na higroscopicidade dos comprimidos.

7.7 REFERÊNCIAS

AL-MUHTASEB, A.H.; McMINN, W.A.M.; MAGEE, T.R.A. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: a review. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, part C, v. 8, p. 118-128, 2002.

ARSLAN, N.; TOGRUL, H. The fitting of various models to water sorption isotherms of tea stored in a chamber under controlled temperature and humidity. **Journal of Stored Products Research**, v. 42, p. 112-135, 2006.

AULTON, M.E. Secagem. In: AULTON, M.E. (Ed.) **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 26, p. 384-401.

BUCKTON, G. Propriedades do estado sólido. In: AULTON, M.E. (Ed.) **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 9, p. 151-162.

CARSTENSEN, J.T. **Advanced Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 2001.

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

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade da matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

DE SOUZA, K. C. B. **Avaliação biológica de preparações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

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

DÍAZ, R.G. Actividad del agua de los alimentos. Métodos de determinación. **Alimentaria**, v. 229, p. 77-82, 1992.

DITCHFIELD, C. **Estudo dos métodos para a medida da atividade de água**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, 2000.

ENDALE, A.; SCHMIDT, P.C.; GEBRE-MARIAM, T. Standardisation and physicochemical characterization of the extracts of seeds of *Glinus lotoides*. **Die Pharmazie**, v. 59, p. 34-34, 2004.

FENNEMA, O.R. Water and Ice. In: FENNEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 2, p. 17-94.

FLORENCE, A.T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. São Paulo: Edusp, 2003.

HEBERLÉ, G. **Desenvolvimento do produto seco por aspersão de *Cecropia glazioui* Sneth. (Cecropiaceae)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2000.

HOLZSCHUH, M.H. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteracea**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

KONTNY, M.J.; ZOGRAFI, G. Sorption of water by solids. In: BRITTAIN, H.G. (Ed). **Physical characterization of pharmaceutical solids**. New York: Marcel Dekker, 1995. Cap. 12, p. 387-418.

LABUCKAS, D.O.; MAESTRI, D.M.; GROSSO, N.R.; ZYGADLO, J.A. Essential oils of *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline alata* and *Achyrocline tomentosa*. **Planta Medica**, v. 65, p. 184-186, 1999.

LIST, P.H.; SCHMIDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

PETROVICK, G. F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

SANTOS, A. L. G. **Estudo tecnológico e biológico de soluções extrativas aquosas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

SOARES, L.A.L. **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 em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

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

8 CAPÍTULO 7: FÍSICA DA COMPRESSÃO

8.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

Especial atenção tem sido dada para a avaliação da compressibilidade dentro tanto da engenharia de materiais quanto das ciências farmacêuticas (ALDERBORN, 2005). O estudo pormenorizado da compressibilidade de materiais pulverosos e granulados possibilita determinar os mecanismos de densificação envolvidos na formação de um compacto coerente e poroso com formas definidas e estáveis (NYSTRÖM e KAREHILL, 1996). A determinação das tendências de deformação e de sua intensidade, por sua vez, podem servir de instrumento para a otimização de formulações, assim como para adequação da força de compressão e seu tempo de exercício (BICA e col., 2006).

Os maiores problemas apresentados pelos estudos de física de compressão são a transposição dos dados para a escala produtiva. A máquina excêntrica e o simulador são substituídos pela máquina rotativa devido ao alto rendimento e, igualmente, os punções planos são permutados para os côncavos com curvatura normal com melhor distribuição das forças compressionais, maior resistência à tensão e resistência à abrasão (ALDERBÖRN, 2005; AULTON e TEBBY, 1974; PITT e col., 1989; VOIGT e BORNSCHEIN, 1982). A crença de que as propriedades deformativas serão mantidas durante essas bruscas mudanças não são embasadas na literatura (KIEKENS e col., 2004; PALMIERI e col., 2005; SPANIOL, 2007). Logo, o estudo da física da compressão em máquina rotativa instrumentalizada, utilizando punções côncavos, tem como objetivo aproximar essas duas fases, empregando a equação de Heckel para pós (PSA e adjuvantes), granulados (via úmida e seca) e complexos farmacêuticos.

8.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar o comportamento compressional de produtos secos por aspensão provenientes de duas soluções extrativas de composição diferentes (PSA40 e PSA80), dos granulados obtidos a partir destes PSA (GRPSA40 e GRPSA80), de granulados co-processados de adjuvantes (GRADJ) e dos respectivos complexos farmacêuticos granulares (CF40 e CF80) por meio da equação de

Heckel pelo método *out of die* em máquinas de comprimir rotativas instrumentalizadas;

- Comparar o comportamento de deformação dos PSA e seus derivados, com os dados obtidos de adjuvantes de amplo emprego.
- Avaliar a compactabilidade e comprimibilidade dos complexos farmacêuticos.

8.3 REVISÃO DO TEMA

A instrumentalização da máquina de comprimir por Higuchi, em 1959, a elevou de um equipamento essencialmente operacional para uma ferramenta analítica com a qual se obtém substancial informação do processo de compressão. Por meio desta foi possível adquirir as medidas das forças envolvidas, tais como força de compressão, força de ejeção, força residual, forças presentes na parede da matriz e força de aderência (SOARES e PETROVICK, 1999). As fitas de deformação e os cristais piezoelétricos são empregados na mensuração destas forças após prévia calibração e validação dos sistemas de medidas, considerando-se a deformação das peças de compressão (WATT e ARMSTRONG, 2008; PARONEN e ILKKA, 1996). Medidas de deslocamento dos punções também foram implementadas com o uso de transdutores de deslocamento com saída analógica ou digital que levaram a um considerável avanço do estudo do comportamento compressional (WATT e ARMSTRONG, 2008; PARONEN e IIKKA, 1996).

Joiris e col. (1998) definiram os termos comprimibilidade (*tabletability*), compressibilidade e compactabilidade cujos significados serão adotados neste trabalho. Devido à grande amplitude de campo e as suas inúmeras intersecções, as ciências farmacêuticas, destacando-se a tecnologia farmacêutica, possuem uma grande discrepância no emprego dos termos ora com definições oriundas das ciências básicas ora com definição própria da farmácia (ex. dureza). Embora ainda não haja uma ampla padronização destes termos, os mesmos já têm sido adotados por outros autores (PATEL e col., 2006; SUN e HIMMELSPACH, 2006).

A comprimibilidade é a capacidade de um material pulveroso ser transformado em comprimido, com resistência mecânica específica, pelo efeito da pressão. A compressibilidade, termo mais consensual, é a capacidade de um material reduzir seu volume quando submetido à pressão. Por fim, a compactabilidade é a capacidade de um material produzir comprimidos, com suficiente resistência mecânica sobre o efeito da densificação (JOIRIS e col., 1998). A fim de não causar confusão, estes termos são fortemente indicados quando todas as três variáveis são usadas no mesmo estudo (PATEL e col., 2006).

O processo de compressão consiste, basicamente, numa seqüência de fases. Inicialmente, as partículas na matriz são rearranjadas resultando numa estrutura mais empacotada. A partir de uma determinada carga, o empacotamento característico do material e/ou o elevado atrito interparticular irão impossibilitar qualquer acomodação mais densa advinda da ausência de mobilidade particular. A subsequente redução do volume provém da deformação das partículas iniciais. Se a pressão de compressão aplicada não atingir o limite de elasticidade do material, as partículas sofrerão deformação elástica e recuperarão o volume original. No entanto, quando esse valor crítico é sobrepujado às partículas deformarão plasticamente o que resultará em mudança permanente de forma (ALDERBORN, 2005; NYSTRÖM e KAREHILL, 1996; PATEL e col., 2006).

Teoricamente, todos os materiais são sujeitos à fragmentação sob uma determinada carga (força de fratura). Materiais cuja fratura das partículas primárias ocorre antes de atingir o valor crítico específico de elasticidade, sob baixas pressões, possuem deformação fragmentativa. As partículas menores, resultantes da fragmentação, podem assumir novas posições e serem submetidas a novas deformações, deste modo acarretando na diminuição do volume do compacto (ALDERBORN, 2005; PATEL e col., 2006).

A deformação fragmentativa é independente do tempo de aplicação da força de compressão. As deformações elástica e plástica por definição também são independentes do tempo, entretanto, alguns materiais podem, sob certas circunstâncias

processuais, apresentar deformações viscoelástica e viscosa. Com objetivo de evitar confusão e devido à dificuldade de caracterizar efeitos viscoelásticos, a literatura, comumente, unifica esses dois conceitos e cita que as deformações elásticas e plásticas são influenciáveis pelo tempo de exercício da força (ALDERBORN, 2005; PATEL e col., 2006; SOARES e PETROVICK, 1999; MÜLLER, 1996).

Numerosos modelos matemáticos descrevem a compressibilidade dos materiais. Dentre estas, destacam-se a equação de Walker, a equação de Kawakita, a equação de Cooper e Eaton e a equação de Heckel (ÇELIK, 1992). Indubitavelmente, a equação de Heckel (equação 8.1) é a mais aplicada nos estudos farmacêuticos, a qual considera que a redução dos espaços vazios obedece a uma cinética de primeira ordem com a aplicação da pressão (SOARES e PETROVICK, 1999).

$$\ln\left(\frac{1}{1-D}\right) = K \cdot P + A \text{ (eq. 8.1)}$$

Onde, D corresponde à densidade relativa de uma coluna de pó sob pressão (P); K e A são constantes obtidas, respectivamente, da inclinação e do intercepto da extrapolação da porção linear da equação de Heckel (PARONEN e ILKKA, 1996).

A partir da recíproca da constante K se obtém a pressão média de deformação (P_y), a qual, por sua vez, informa sobre a capacidade do material deformar plasticamente sob uma determinada pressão (SOARES e PETROVICK, 1999). O intercepto também é informativo, por meio deste se adquire a densidade relativa extrapolada da constante A (D_A). A subtração da D_A pela densidade relativa inicial real (D_0), proveniente de dados experimentais, resulta na densidade relativa de rearranjo (D_B). A D_0 , com frequência, é obtida da razão entre a densidade bruta e a densidade real. A D_B possibilita avaliar a redução do volume devido ao rearranjo das partículas, no entanto, alguns autores também incluem a fragmentação como partícipe desta etapa inicial (PARONEN e ILKKA, 1996).

Há essencialmente duas formas de adquirir os dados de porosidade. O método cujas informações são obtidas durante a compressão, exigindo instrumentalização dos punções com transdutores de deslocamento, é denominado de *in die* ou *at pressure*.

Outra forma de obter as informações de porosidade é após a ejeção do compacto da matriz e mensuração das suas dimensões. Tal método de aquisição de informações é, usualmente, denominado *out of die* ou *zero pressure* e exige produção de compactos em ampla faixa de pressões.

O método *in die* devido à maior facilidade de obtenção e a possibilidade de obter os dados da descompressão (avaliação do comportamento elástico) tem sido mais amplamente empregado. Apesar disso, o método *out of die* pode ser considerado mais fidedigno para a obtenção do P_y visto que não leva em consideração a contribuição da deformação elástica imediata (PATEL e col., 2006; KUNY e LEUENBERGER, 2003). Joiris e col. (1998) consideram que para o modelo *in die* o P_y obtido é o aparente, e não o real, devido ao efeito intrínseco da elasticidade. Além disso, a deformação elástica pode, teoricamente, resultar numa mudança reversível da densidade real das partículas o que explicaria os resultados de densidade relativa maiores que 1 (ADOLFSSON e NYSTRÖM, 1996; PARONEN e ILKKA, 1996; PATEL e col., 2006). Outrossim, com os comprimidos ejetados é possível caracterizar conjuntamente a compressibilidade, comprimibilidade e compactabilidade.

Medidas de compressibilidade têm se realizado com compressões unidirecionais, isto é, sistemas onde a força é exercida axialmente somente num sentido. Em tais estudos, máquinas excêntricas instrumentalizadas são usadas, assim como máquinas universais de testes, sendo empregadas raramente máquinas rotativas que possuem sistema de compressão bidirecional (PARONEN e ILKKA, 1996). Da mesma forma, punções planas são preferidas em estudos de física da compressão devido à maior facilidade no cálculo da pressão de compactação e na medida das suas dimensões, bem como para se obter certa padronização, a fim de tornar os resultados equiparáveis.

A restrição ao emprego da máquina de comprimir rotativa nos estudos de compressibilidade se baseia na recente instrumentalização da movimentação axial dos punções, principalmente, por transdutores de deslocamento (PALMIERI e col., 2005). Além disso, os estudos de pré-formulação e física de compressão são historicamente

realizados em máquinas excêntricas e, na atualidade, em simuladores devido ao baixo dispêndio de material por vezes parco.

Palmieri e col. (2005) avaliaram a diferença de compressibilidade de máquinas de comprimir alternativa e rotativa instrumentalizadas com punções planos facetados por meio da equação de Heckel. A presença de transdutores de deslocamento em ambas as máquinas possibilitou o emprego do método *in die* para os adjuvantes: celulose microcristalina, lactose monoidratada e fosfato de cálcio diidratado. As máquinas rotativas apresentaram uma faixa de linearidade mais estreita e diferença quanto ao P_y e formato da curva com relação à máquina alternativa, principalmente, para a lactose e o fosfato de cálcio, materiais com maior predominância de deformação fragmentativa. Os autores atribuem a menor linearidade da máquina rotativa à presença de deflexão durante a compressão e à curvatura da cabeça dos punções o que resulta em velocidade não uniforme antes e depois do *dwell time* (tempo durante o ciclo compressional em que o menor distanciamento entre os punções é mantido). O D_B foi maior para máquina rotativa o que foi explicado pela existência de rearranjo juntamente com deformação fragmentativa advindas da compressão bidirecional. O comportamento viscoso da celulose microcristalina foi visível durante a compressão da máquina rotativa e se deveu ao *dwell time*.

As diferenças dos P_y e D_B se devem, entre outros fatores, à dificuldade de se obter uma faixa linear, principalmente, para os adjuvantes que sofrem fragmentação. A justificativa para a não linearidade pode também ser decorrente do emprego do método *in die* que negligencia a elasticidade imediata e da alta velocidade de rotação de 25 rpm que prejudica a formação da deformação plástica. De qualquer maneira, os autores reconhecem que o perfil de densificação de materiais durante a produção em escala industrial pode ser melhor descrito em máquinas rotativas instrumentalizadas (PALMIERI e col., 2005).

Para aplicação da equação de Heckel, no entanto, outros entraves podem aparecer. Com já mencionado, a maioria dos trabalhos emprega o método *in die* e a interpretação do *dwell time* pode complicar a análise dos dados em maiores pressões.

A aplicação do método *out of die* sobrepuja essas dificuldades. Os estudos de Heckel, ademais, foram baseados em modelo unidirecional de compressão, portanto, sem a presença de *dwell time*. Apesar disso, a presença da compressão bidirecional em nada interfere na teoria na qual a análise de Heckel se fundamenta e proporciona melhor distribuição das forças compressionais no leito pulveroso. A análise de Heckel com adjuvantes de conhecido comportamento compressional nas condições empregadas dirime o viés na comparação dos resultados advindos do *dwell time* e da compressão bidirecional.

Kiekens e col. (2004) compararam punções facetados planos e côncavos em diferentes pressões, alturas de coluna de pó e com três distintos diâmetros (4; 9,5 e 14 mm). Os pesquisadores concluíram que os punções facetados planos apresentavam valores de P_y mais robustos que os côncavos devido à menor influência sob estes das variáveis testadas. Algumas ressalvas devem ser feitas sobre as conclusões do estudo, tais como, o emprego do método *in die* e a avaliação do desvio padrão presente no modelo de análise de superfície de resposta para embasar a superioridade atribuída ao P_y obtido para o punção plano. O desvio padrão da equação da superfície de resposta nada informa sobre a reprodutibilidade na obtenção do P_y , mas sim da variabilidade do próprio modelo. Embora os punções côncavos sofram uma maior influência da força de compressão, os outros parâmetros estudados são, claramente, secundários e, assim como nos punções planos facetados, apresentam efeito significativo (isolados ou interações).

A teoria na qual se assenta o método de Heckel é limitada pela presença de materiais com porosidade interna, tais como granulados, visto que não a leva em consideração. Apesar disso, Couto (2005) pode experimentalmente comprovar a proximidade de valores de P_y para os granulados e seus constituintes. Outros trabalhos também avaliaram a compressibilidade por Heckel para *pellets* de paracetamol (BRAUN, 2003), granulados de carbonato de magnésio (FREITAG e KLEINEBUDDE, 2003) e misturas de complexos farmacêuticos de granulados de produtos secos por aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri L.* contendo granulados co-processados de adjuvantes (SPANIOL, 2007). Este último trabalho serviu de base para

o presente estudo e combina mistura binária de granulados obtidos por métodos distintos.

8.4 PARTE EXPERIMENTAL

8.4.1 Materiais

O PSA40 e PSA80 utilizados neste trabalho foram aqueles produzidos, respectivamente, por Petrovick (2006) e Holzschuh (2008). Os GRADJ9%DIS, GRADJ9%EX, GRPSA40, GRPSA80, CF40 e CF80 foram obtidos como descrito, respectivamente, nos itens 5.4.3.3; 4.4.3.1 e 6.4.3.3. A celulose microcristalina (Microcel® MC-101, lote 221/05, Blanver, Cotia/Brasil)¹, fosfato de cálcio diidratado (Emcompress®, JRS PHARMA, Rosenberg/Alemanha) e o estearato de magnésio (Acros Organics, Lote A0235781, Nova Jersey/USA) foram os adjuvantes farmacêuticos empregados no estudo de física da compressão. Durante a análise do tempo de desintegração dos comprimidos foi empregado água destilada.

8.4.2 Equipamentos², acessórios e correlatos

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

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

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)²;

Durômetro Schleuninger 2E;

Máquina de comprimir rotativa intrumentalizada Riva Piccola com punções côncavas de diâmetro de 9 mm e raio de curvatura de 9 mm (CDTF/UFRGS)²;

Micrômetro digital Mitutoyo 0 - 25 mm/1”;

Picnômetro de hélio Quanta Chrome modelo MVP1 (LACER/UFRGS)²;

Software estatístico Minitab® versão 14;

¹ O autor agradece a empresa Colorcom do Brasil pela doação de amostra do adjuvante

² e aos laboratórios citados pela disponibilização dos equipamentos.

8.4.3 Métodos

8.4.3.1 Estudo preliminar de tribologia dos complexos farmacêuticos relativo ao tempo de mistura

8.4.3.1.1 Mistura e produção de comprimidos

Para a avaliação da sensibilidade dos complexos farmacêuticos ao tempo de mistura e, por conseguinte, para investigar a influência do lubrificante, se realizou a mistura do GRADJ (28,1 %, m/m) com o seu respectivo GRPSA (71,4 %, m/m) em misturador cilíndrico para comprimidos efervescentes semelhantemente ao realizado por Couto (2005). A rotação utilizada foi de 25 rpm. Após 2 min de mistura foi acrescentado o lubrificante estearato de magnésio (0,5 %, m/m) e se realizou a amostragem conforme a tabela 8.4.3.1. Empregou-se 15 g de cada complexo farmacêutico.

Tabela 8.4.3.1. Delineamento geral do experimento de tribologia

Amostras tempo de mistura	Amostragem dos complexos farmacêuticos e comprimidos	Análises realizadas
Sem EstMg 2 min	2,5 g 9 comprimidos	Dureza (n = 3) Desintegração (n = 6)
Com EstMg 1,5 min	2,5 g 9 comprimidos	Dureza (n = 3) Desintegração (n = 6)
Com EstMg 5 min	1 g 3 comprimidos	Dureza (n = 3)
Com EstMg 15 min	1 g 3 comprimidos	Dureza (n = 3)
Com EstMg 30 min	1 g 3 comprimidos	Dureza (n = 3)
Com EstMg 60 min	2,5 g 9 comprimidos	Dureza (n = 3) Desintegração (n = 6)

EstMg = estearato de magnésio

A seguir os complexos farmacêuticos foram armazenados e posteriormente comprimidos sob as mesmas condições compressionais. A pesagem foi realizada individualmente para maior precisão e utilizou-se apenas um conjunto de ferramentas de compressão (punções e matriz) para que se mantivessem as mesmas condições. A velocidade de rotação foi mantida em 5 rpm visto que a sincronização da velocidade

(estabilização) ocorre em um terço de uma volta completa não interferindo na compressão. O grau de penetração do punção superior possui 94 níveis de profundidade, utilizou-se o nível 81 para todas as compressões (dureza na faixa de 70 - 90 N para maioria dos comprimidos). Obtiveram-se os dados referentes à força de compressão (transformados em pressão a partir da área do punção superior) e força de ejeção da máquina de comprimir rotativa instrumentalizada.

8.4.3.1.2 Caracterização dos comprimidos dos complexos farmacêuticos de PSA40 e PSA80 - teste de sensibilidade à mistura

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

Ensaio realizado por observação visual da homogeneidade de coloração, bem como mensuração das dimensões (altura, diâmetro e espessura das bordas do comprimido) por meio de micrômetro digital.

8.4.3.1.2.2 Determinação da dureza, resistência à tensão e índice de coesão

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

A resistência à tensão foi calculada a partir da equação 5.3 do item 5.4, que emprega as dimensões do comprimido e o valor obtido da dureza.

O índice de coesão foi obtido pela razão entre a resistência à tensão e/ou dureza e pressão máxima.

8.4.3.1.2.3 Determinação do tempo de desintegração (FARMACOPÉIA, 1988)

O tempo de desintegração foi determinado em água a 37 ± 1 °C, e o resultado expresso pela média de seis determinações. As amostras utilizadas constam na tabela 8.4.3.1.

8.4.3.2 Física da compressão: compressibilidade, compactabilidade e comprimibilidade

Os PSA40, PSA80, GRPSA40, GRPSA80, GRADJ9%DIS, GRADJ9%EXT, celulose microcristalina e fosfato de cálcio diidratado foram avaliados quanto a sua compressibilidade por meio da equação de Heckel pelo método *out of die*. Empregou-se para tanto máquina de comprimir instrumentalizada rotativa com penas um conjunto de ferramentas de compressão, constituído de punção circular côncavo com 9 mm de diâmetro. O ajuste do deslocamento do punção inferior durante a fase de dosagem foi mantido constante. A opção de pré-compressão não foi usada.

Pesou-se 250 mg do material a ser avaliado e a matriz foi preenchida manualmente. A força de compressão foi ajustada pela penetração do punção superior através dos níveis do rodete superior (0 - 91). A pressão foi obtida pela razão entre a força compressional registrada pelo punção superior e a área da sua calota. A velocidade utilizada foi de 5 rotações por minuto (rpm) para garantir a sincronização antes do início da compressão, bem como para compensar o ciclo de compressão mais prolongado apresentado nas máquinas excêntricas (BRAUN, 2003). A faixa de pressão utilizada foi dependente do material. Para cada nível de compressão se obtiveram de 3 a 4 comprimidos. As ferramentas de compressão foram lubrificadas com estearato de magnésio previamente à produção dos compactos de cada formulação e a sua efetividade acompanhada pela força de ejeção. Os comprimidos ejetados foram caracterizados ao final do processo total de compressão (± 3 horas).

Avaliou-se para os complexos farmacêuticos de PSA40 e de PSA80 e celulose microcristalina, simultaneamente, o comportamento compressional (porosidade em função da pressão máxima, empregando equação de Heckel), a compactabilidade (resistência à tensão em função da porosidade) e a comprimibilidade (resistência à tensão em função da pressão máxima) dos comprimidos produzidos (JOIRIS e col., 1998). Os adjuvantes celulose microcristalina e fosfato de cálcio foram caracterizados a fim de se ter padrões de comportamento compressional distintos e amplamente descritos pela literatura.

Determinaram-se equações de reta para porção linear das curvas obtidas se tendo como mínimo aceitável de coeficiente de correlação o valor de 0,95 (MITREVEJ e col., 1996; COUTO, 2005). Na faixa empregada, devido à falta de reprodutibilidade das pressões no mesmo nível e com a mesma quantia de material, mormente para os granulados, optou-se por empregar todos os pontos na análise de regressão. Outros critérios avaliados foram à exclusão do zero no intervalo de confiança da inclinação e a confirmação da regressão linear pela análise de variância.

Os mesmos parâmetros de caracterização dos comprimidos do item 5.4.3.4.2 (exceção feita aos itens 5.4.3.4.2.8; 5.4.3.4.2.9 e 5.4.3.4.2.10) foram utilizados.

8.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizou-se um estudo introdutório da influência tribológica sobre os comprimidos de CF40 e CF80, especialmente, quanto ao tempo de mistura em misturador cilíndrico, avaliado por Couto (2005).

Esse teste serviu como um estudo preliminar da formulação, da máquina de comprimir, e das propriedades dos comprimidos (dureza e desintegração). A faixa de tempo de mistura empregada foi ampla a fim compensar a baixa força de cisalhamento do misturador. Independente da quantia que permaneceu no misturador, o processo de mistura ocorreu sem alteração, não sendo visualizada segregação durante o processo, demonstrando maior robustez para essas formulações que o misturador em Y (item 6.5).

A despeito do capítulo de física da compressão estar situado posterior ao capítulo dos comprimidos finais (item 6), na ordem cronológica, o item 8.4.3.1 foi realizado previamente. A produção dos comprimidos, nesta fase, resultou em um bom prognóstico para a compressão dos comprimidos finais visto que não se verificaram sinais de *capping*, laminação ou aderência aos punções. Apesar disso, fenômenos de segregação foram constatados pela distribuição anômala dos constituintes dos complexos farmacêuticos nas faces dos compactos. A força de ejeção foi baixa (< 40

N) e, praticamente, constante durante o experimento sendo um pouco superior nas formulações obtidas sem a presença do lubrificante.

A fim de levar em consideração as variáveis, tais como, pressão máxima, dimensões e formato dos comprimidos, empregou-se o índice de coesão. O índice de coesão possibilita a comparação mais direta dos comprimidos (como explanado no item 6.5).

O perfil do índice de coesão denota uma maior sensibilidade ao lubrificante para os comprimidos de CF40. Os comprimidos de CF80 apresentaram decaimento do índice de coesão, entretanto, essa diminuição foi conspícua apenas para o tempo de mistura de 5 min (figura 8.5.1). Estudos demonstraram forte interferência do estearato de magnésio sobre as forças intermoleculares, especialmente de Van der Waals, o que acarreta, muitas vezes, em considerável queda na resistência mecânica de comprimidos com mecanismo de deformação plástica predominante (BOLHUIS e HÖLZER, 1996). Este efeito é aumentado com o acréscimo da concentração deste lubrificante e/ou o maior tempo de mistura. A menor sensibilidade da formulação CF80, talvez se deva à presença de deformação fragmentativa que a torna mais robusta ao tempo de mistura (ZUURMAN e col., 1999).

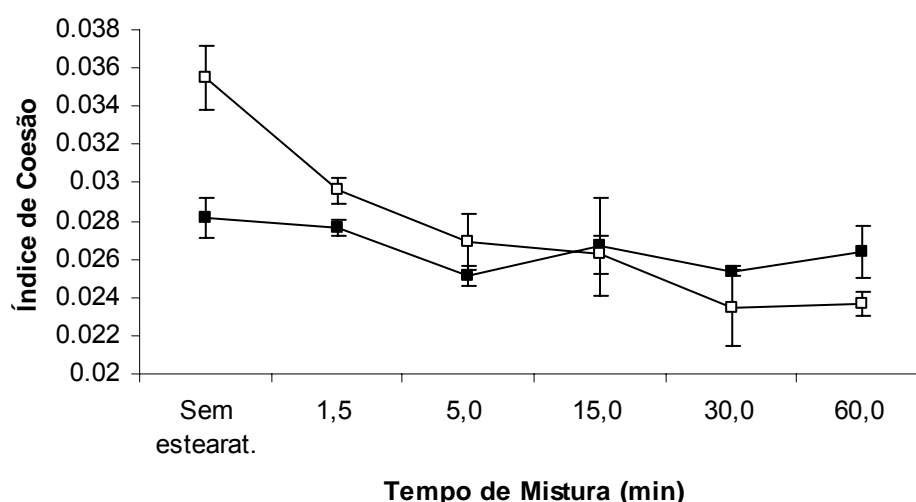


Figura 8.5.1. Índice de coesão de comprimidos de CF40 (□) e CF80 (■) sem estearato de magnésio e com a presença do lubrificante nos tempos de mistura de 1,5 min; 5,0 min; 15 min; 30,0 min e 60,0 min.

O tempo de desintegração foi também testado a fim de se avaliar a influência da quantidade de lubrificante aplicada, bem como do seu tempo de mistura nesta característica dos comprimidos finais. Devido à baixa força de ejeção e à ausência de aspectos físicos deletérios aos comprimidos, havia a possibilidade de ajustar a concentração de lubrificante de modo a diminuir o tempo de desintegração, caso fosse necessário.

Optou-se por utilizar na avaliação do tempo de desintegração dos CF sem lubrificante e com lubrificante dos tempos 1,5 min e 60 min visando avaliar os extremos da mistura. No entanto, deve-se ressaltar que os dados não podem ser diretamente transpostos para outro tipo de misturador (WATT e VILLIERS, 1997). O baixo tempo de desintegração de ambos os comprimidos obtidos denotou que essa etapa da dissolução não irá ser a limitante no processo (tabela 8.5.1). De modo geral, os CP40 apresentaram mais lenta desintegração e maior variabilidade.

Tabela 8.5.1. Tempo de desintegração (s) dos comprimidos do estudo tribológico

comprimidos \ condições	Sem lubrificante	Lubrificados por 1,5 min	Lubrificados por 60 min
CP40 (média ± s)	108 ^a ± 110	199,7 ^a ± 116,1	173,7 ^a ± 64,9
CP80 (média ± s)	73,6 ^a ± 10	153,7 ^b ± 48,9	76,8 ^a ± 19,1

Médias seguidas de mesma letra não diferem, na mesma linha, entre si pelo teste de *Tukey* ($\alpha = 0,05$)

Lubrificantes, tais como o estearato de magnésio, podem interferir nos processos de desintegração e dissolução devido a sua natureza hidrofóbica. A presença do lubrificante, entretanto, não resultou em marcante efeito no tempo de desintegração. Entre as formulações contendo o estearato de magnésio observou-se diminuição ou manutenção do tempo de desintegração no maior tempo de mistura devido, provavelmente, à diminuição na coesão dos comprimidos e a mais fácil penetração da água. Elevado tempo de mistura com estearato de magnésio resulta em formação de carga elétrica que pode potencializar os problemas já presentes neste adjuvante. Tal fato não foi observado neste estudo (BOLHUIS e HÖLZER, 1996).

Este estudo preliminar demonstrou adequação dos comprimidos de ambas formulações sob a velocidade de rotação da máquina de comprimir de 5 rpm. Sendo

assim, as condições operacionais da máquina de comprimir (já empregadas nos estudos do GRADJ) se mostraram apropriadas para a produção de comprimidos nos estudos de física da compressão. Além disso, observou-se rápida desintegração dos mesmos e um evidente, mas fraco efeito tribológico nas formulações.

O estudo de física da compressão é fundamental para caracterização tecnológica completa do complexo farmacêutico (CF). Por meio deste, é possível antever futuros problemas compressionais e descrever os atributos do CF que podem explicar as características dos comprimidos finais. Além disso, a avaliação dessas características pode auxiliar na modificação dos parâmetros de formulação e de processo, caso necessário.

Para que todas as facetas do comportamento compressional dos complexos farmacêuticos produzidos possam ser desvendadas é importante que se faça um estudo pormenorizado dos seus constituintes. Desse modo, os GRPSA e o GRADJ tiveram os seus mecanismos de densificação investigados. Igualmente os PSA, que são constituintes majoritários nos GRPSA (68,5 %, m/m) e preponderantes nos CF (48,9 %, m/m), foram analisados. A obtenção dos comportamentos compressionais dos componentes, principalmente para materiais plásticos, pode auxiliar na inferência das propriedades da mistura final (ILKKA e PARONEN, 1993; RIEPMA e col.; 1990).

A análise do modelo de Heckel por meio de máquina rotativa instrumentalizada com punções côncavas poderá redundar em grande diferença no *Py* obtido para uma máquina com compressão unidirecional e punções planos. Para que os resultados possam ser adequadamente avaliados é preciso empregar adjuvantes com densificação aprofundadamente estudada e deformações antípodas. Os adjuvantes escolhidos foram o fosfato de cálcio diidratado e a celulose microcristalina que apresentam, respectivamente, deformação predominante fragmentativa e plástica. A celulose microcristalina também foi eleita devido a sua alta concentração ponderal nos GRPSA e GRADJ.

Os testes iniciais foram realizados com os materiais pulveréos visto que não existe o fator complicante da porosidade intragranular para análise de Heckel. A figura

8.5.2 mostra o gráfico de Heckel para os adjuvantes e os PSA. Uma mais ampla faixa foi empregada para análise dos PSA a fim de se observar melhor o platô apresentado por estes. As curvas dos PSA40 e PSA80 são paralelas entre as pressões iniciais até a pressão de 42 MPa. A partir desta pressão ocorre uma manutenção da inclinação para o PSA40, mas um declínio relativo para o PSA80 que, a seguir, retoma parcialmente a sua inclinação anterior. Em torno da pressão de 80 MPa os dois extratos secos atingem um platô e têm, nas pressões de 94 e 157 MPa, pontos de intersecção na curva. Observa-se de forma clara a maior compressibilidade dos PSA quando comparado com a celulose microcristalina nesta faixa de pressões. Igualmente, fica patente a menor inclinação do adjuvante inorgânico.

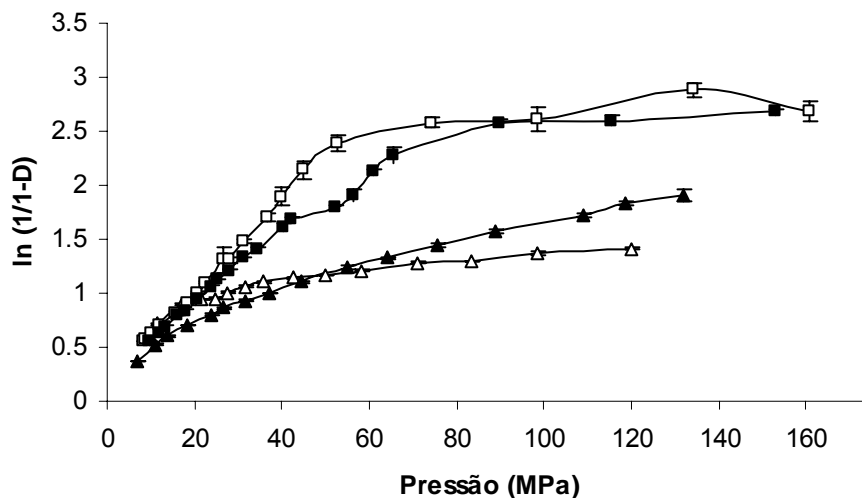


Figura 8.5.2. Gráfico de Heckel para o fosfato de cálcio diidratado (Δ), celulose microcristalina (\blacktriangle), e os produtos secos por aspersão PSA40 (\square) e PSA80 (\blacksquare).

A possível falta de linearidade devida ao emprego de máquina rotativa na obtenção dos dados de compressibilidade não foi observada na porção inicial da curva dos PSA40 e PSA80, bem como na parte intermediária e/ou final da curva dos adjuvantes. Sendo assim, os dados reafirmam a validade do emprego da máquina rotativa no método *out of die*. O emprego de punções côncavas, embora torne mais morosa a obtenção dos dados dimensionais dos comprimidos, parece não ter tido efeito negativo sobre os resultados.

A parte inicial não linear dos gráficos da celulose microcristalina e do fosfato de cálcio se pode atribuir ao rearranjo espacial. A alta compressibilidade aliada à

impossibilidade de se obter compactos em menores pressões, devido à fragilidade dos mesmos, não permitiu a observação da fase de rearranjo dos PSA. Outra hipótese que pode ser aventada para explicar a compressibilidade desses pós se refere aos três tipos de mecanismos de densificação que foram discriminados para materiais farmacêuticos por meio da equação de Heckel. O tipo A ordinariamente é correlacionado ao comportamento plástico precedido por rearranjo, similar ao apresentado pela celulose microcristalina. No tipo B, tal como apresentado para o fosfato de cálcio diidratado, a densificação ocorre por fragmentação. Enquanto, no tipo C, ocorre deformação plástica, mas o rearranjo particular não é observado. Além disso, em maiores pressões atinge um platô (PARONEN e ILKKA, 1993). Este último tipo descreve perfeitamente os PSA.

A tabela 8.5.2 sumariza os parâmetros retirados da parte linear das curvas. A pressão média de deformação (P_y) reafirma a avaliação qualitativa gráfica. O PSA40 e o PSA80 apresentam os mais baixos valores, o que atesta sua maior plasticidade. Tal fato provém de seu método de obtenção que resulta na formação de material predominantemente amorfo. Materiais amorfos possuem grande área superficial específica e maior desordenamento molecular o que aumenta, por sua vez, a área de contato efetiva durante a compressão. Dessa forma, a formação da ligação é favorecida resultando em maior compressibilidade e menor recuperação elástica.

A celulose microcristalina, adjuvante que possui já bem conhecida deformação plástica, apresentou valor intermediário entre os extratos secos e o fosfato de cálcio. A celulose microcristalina tem sua deformação plástica facilitada, em microescala, pela presença de planos de deslizamento e deslocamentos de seus microcristais. Em macroescala, a porção amorfa favorece essa deformação (BOLHUIS e CHOWHAN, 1996). Apesar da menor compressibilidade apresentada pela celulose microcristalina na faixa de trabalho empregada, em maior pressões esta poderá apresentar maior densificação que os PSA dada a tendência deste último de manutenção da sua densidade relativa.

O fosfato de cálcio, como era esperado, apresentou o maior P_y advindo da fratura das suas partículas primárias. Devido à formação de novas estruturas, a lubrificação apenas da matriz não foi suficiente. A fim de garantir menor força de ejeção, os compactos obtidos com esse material foram misturados em misturador cilíndrico com 1 % (m/m) de estearato de magnésio durante 8 min. A presença do estearato de magnésio nestes materiais não resultou em modificação sensível da sua compactação haja vista a sua elevada robustez frente à lubrificação (BOLHUIS e CHOWHAN, 1996).

Tabela 8.5.2. Parâmetros do modelo de Heckel para os produtos secos por aspersão PSA40, PSA80, celulose microcristalina e fosfato de cálcio diidratado

Material	P_y (MPa)	A	D_B	r^2	Faixa de pressão (MPa)
PSA 40	23,67	0,1732	-0,1616	0,9905	8 – 52 (15 níveis)
PSA 80	28,88	0,2267	-0,10622	0,9969	9 – 45 (13 níveis)
Celulose microcristalina	96,50	0,6397	0,2776	0,9861	30 – 110 (8 níveis)
Fosfato de cálcio diidratado	232,89	0,9584	0,2467	0,9783	34 – 98 (7 níveis)

P_y = pressão média de deformação; A = intercepto da extrapolação da porção linear da equação de Heckel; D_B = densidade relativa de rearranjo; r^2 = coeficiente de determinação.

O efeito do rearranjo demonstrado pelo parâmetro D_B evidencia para os PSA, de fato, a inexistência de rearranjo e a presença de erro sistemático nesta curva, o que esclarece o valor negativo. Há que se ressaltar que o D_0 empregado provém da razão entre a densidade bruta e densidade real e não necessariamente representa a densidade relativa inicial do pó quando posto na matriz. Os adjuvantes apresentam rearranjo sob baixas forças compressionais.

Quando comparado com a literatura, o valor de D_B calculado para o fosfato de cálcio diidratado foi muito próximo a 0,232; apresentado para o método *in die* em máquina rotativa. Por outro lado, o P_y citado foi o dobro do valor obtido neste trabalho (PALMIERI e col., 2005). Entretanto, para máquina excêntrica no mesmo trabalho, o P_y apresenta valores mais próximos em torno de 200 MPa. A diferença reside não apenas no método empregado, mas também no formato dos punções e na velocidade de rotação que foi sensivelmente superior a aqui empregada.

De igual maneira, para punções côncavos de 9,5 mm com preenchimento da matriz de 7,5 mm, a celulose microcristalina apresentou, na pressão de 150 MPa (próxima do empregado), P_y de 100,3. Novamente, a pequena divergência dos resultados pode residir no equipamento empregado e no método *in die* (KIEKENS e col., 2004).

A comparação direta dos adjuvantes com os dados da literatura deve ser feita com cuidado, considerando as diferenças nas condições aqui empregadas. Entretanto, a evidente diferenciação entre ambos os componentes e os PSA permite estabelecer três zonas para os granulados que serão caracterizados a seguir. A proximidade dos P_y com os valores obtidos para o PSA permite assumir predominância das características do PSA em relação aos outros componentes e/ou alta plasticidade. Valores próximos dos apresentados pela celulose confirmam predominância das características da celulose microcristalina e/ou a existência de deformação predominantemente plástica. Quanto da proximidade dos valores apresentados pelo fosfato de cálcio diidratado se pode inferir pela ocorrência de deformação fragmentativa.

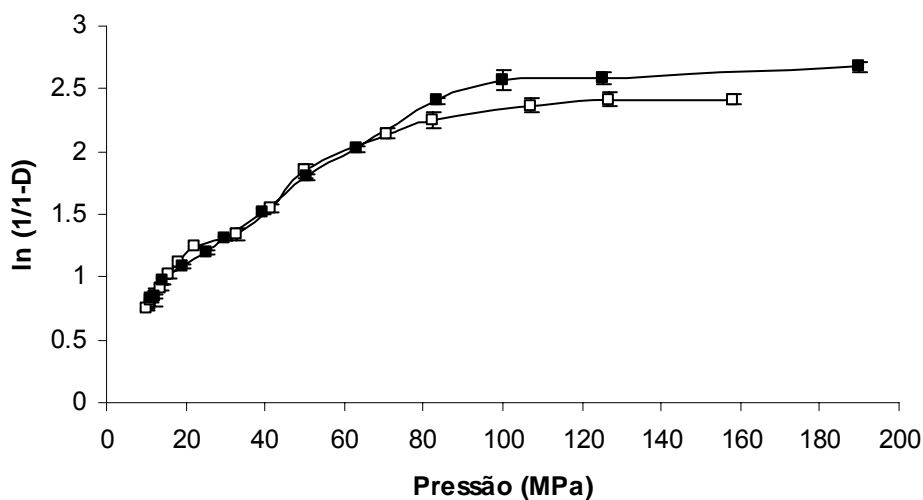


Figura 8.5.3. Gráfico de Heckel para os granulados de produtos secos por aspersão GRPSA40 (□) e GRPSA80 (■).

Os granulados de PSA mostraram perfil muito parecido com o seu constituinte majoritário (68,5 % de PSA). Demonstraram comportamento análogo ao tipo 3, inclinação acentuada no início sem presença clara de rearranjo e com platô acima de

82 MPa. Ocorre paralelismo no princípio das curvas com sobreposição para ambos os GRPSA (figura 8.5.3).

Tabela 8.5.3. Parâmetros do modelo de Heckel para os granulados de produtos secos por aspersão GRPSA40 e GRPSA80

Granulado \ Parâmetros	P_y (MPa)	A	D_B	r^2	Faixa de pressão (MPa)
GRPSA40	46,26	0,6687	0,1780	0,9712	11 – 70 (9 níveis)
GRPSA 80	45,89	0,6407	0,1936	0,9905	11 – 84 (10 níveis)

P_y = pressão média de deformação; A = intercepto da extrapolação da porção linear da equação de Heckel; D_B = densidade relativa de rearranjo; r^2 = coeficiente de determinação.

A despeito da aparente ausência de rearranjo visível, por meio do parâmetro D_B é possível concluir que ele existe, não obstante tenha pouca participação na densificação. Como previsto por meio do formato das curvas, o P_y pouco diferiu entre os GRPSA e entre estes e seus PSA originários. Todos os compactos tiveram o mesmo peso, logo a diferença de densidade entre o PSA e seu granulado correspondente resultou em preenchimento distinto da câmara compressional. Este fator parece não ter suma importância para o valor de P_y . Além disso, a compressão prévia para formação dos briquetes não afetou de maneira sensível a capacidade plástica dos materiais.

Os granulados co-processados de adjuvantes (GRADJ) foram também analisados com o objetivo de se obter uma comparação entre os modos de emprego do aglutinante, isto é, se usados em dispersão (DIS) ou se formados *in situ* (EXT = extemporâneo). Empregaram-se o GRADJ9%DIS, escolhido para compor o complexo farmacêutico final, e o GRADJ9%EXT. A análise gráfica demonstra similar comportamento compressional para os dois granulados. Apesar dos coeficientes de determinação calculados de 0,9236 e 0,9453; na faixa de 24 - 138 MPa com 5 níveis para, respectivamente, GRADJ9%EXT e GRADJ9%DIS, o parâmetro P_y foi obtido e mostrou semelhança com a celulose microcristalina. Os valores de pressão média de deformação foram de 87,29 e 91,53 MPa, se devem, em parte, ao alto percentual de celulose microcristalina presente (87,44 %, m/m). A presença de amidoglicolato e metilcelulose, provavelmente, favoreceu também a plasticidade dos granulados. A D_B

apresentou valor de 0,39 para ambos. Consequentemente pode-se inferir que os granulados são submetidos a elevado rearranjo e fragmentação no princípio do processo compressional, embora este comportamento não esteja claramente detectável na representação gráfica devido à ausência de menores pressões (fig. 8.5.4).

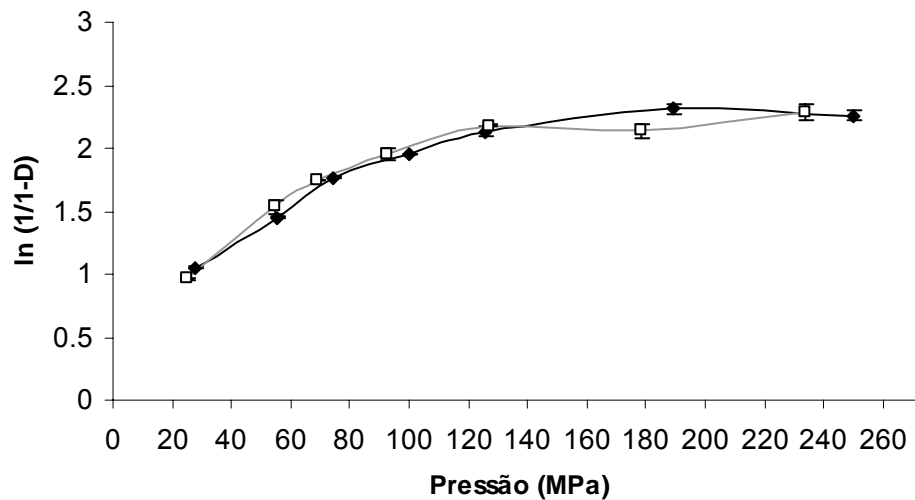


Figura 8.5.4. Gráfico de Heckel para os granulados de adjuvantes GRADJ9%DIS (◆) e GRADJ9%EXT (□)

Os complexos farmacêuticos, ainda que oriundos de constituintes com comportamento compressional similar, se apresentaram distintos (figura 8.5.5).

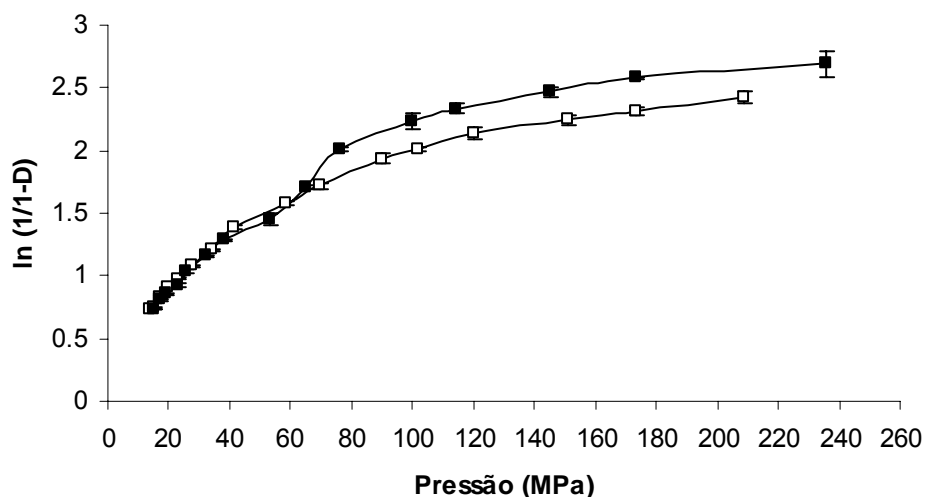


Figura 8.5.5. Gráfico de Heckel para os complexos farmacêuticos CF40 (□) e CF80 (■)

Os CF80 e CF40 apresentaram semelhante densificação no início da compressão, mas com o aumento da pressão acima de 40 MPa ocorre uma clara diferenciação. A partir da pressão 80 MPa, a diferença de densificação se mantém praticamente constante.

Tabela 8.5.4. Parâmetros do modelo de Heckel para os complexos farmacêuticos CF40 e CF80

Parâmetro Complexo	P_y (MPa)	A	D_B	r^2	Faixa de Pressão (MPa)
CF 40	105,88	1,0364	0,4011	0,9762	42 – 126 (6 níveis)
CF 80	64,26	0,6577	0,2225	0,9720	23 – 118 (9 níveis)

P_y = pressão média de deformação; A = intercepto da extrapolação da porção linear da equação de Heckel; D_B = densidade relativa de rearranjo; r^2 = coeficiente de determinação.

O CF40 apresentou perfil compressional similar ao apresentado pela celulose microcristalina, muito embora se observe pelo D_B que sofreu maior rearranjo (tabela 8.5.4). Este último aspecto se deve também à co-participação da fragmentação na densificação inicial dos granulados, ao contrário da celulose microcristalina isolada, cujo principal responsável pela redução do volume é o rearranjo. Desta forma, observa-se uma gradual mudança dos perfis de deformação desde o PSA40 até o CF40, ocasionada, mormente, pelo acréscimo de adjuvantes (especialmente celulose microcristalina), de um tipo C ideal para um tipo A.

O CF80 apresentou um valor intermediário de P_y entre os GRADJ e GRPSA80. Embora a mistura de GRADJ e GRPSA para a formação do CF não seja equiponderal, quanto ao aspecto volumétrico, devido às diferentes densidades, existe um relativo equilíbrio (1:1,3 v/v). O D_B foi próximo do apresentado pelo GRPSA80, desta maneira, neste parâmetro, parece haver uma maior influência do granulado da fase interna.

Em linhas gerais, os granulados e os complexos farmacêuticos se posicionaram claramente entre o comportamento compressional dos PSA e o da celulose microcristalina. A explicação é simples, ambos são os componentes majoritários das formulações. A celulose microcristalina constitui cerca de 44,5 % (m/m) da formulação do CF enquanto o PSA é responsável por 48,9 % (m/m). Sendo assim,

realizando-se uma audaciosa simplificação se pode pensar que se trata de uma mistura binária.

Uma questão primordial para avaliação dos resultados é o parâmetro de área superficial específica. Apesar da leve superioridade ponderal do PSA e sua maior área superficial específica, quando comparada à celulose microcristalina, esta última contrabalança com sua maior propensão a fragmentação, conforme pode ser verificado nos itens 2.5 e 5.5.

Um dos fatores que complicam a análise de componentes binários é a fragmentação, visto que altera a relação da área de contato entre os componentes ao longo das pressões executadas (FELL, 1996). Como se tratam de substâncias predominantemente plásticas, mesmo sendo submetidas à prévia compressão e havendo uma muito leve propensão à fragmentação por parte da celulose microcristalina, pode-se descartar esse fator.

Outros elementos fundamentais são as forças de coesão e de adesão. As menores forças de coesão e de adesão resultam em maior recuperação elástica, ou seja, menor formação das ligações estáveis entre as partículas. Tal fato afeta diretamente a compressibilidade. Para substâncias com igual adesão e coesão se espera um comportamento muito parecido entre as misturas binárias e os componentes unitários. Os diferentes comportamentos compressionais dos CF40 e CF80 talvez residam na presença de forças de adesão maiores entre o PSA80 e a celulose.

Conquanto a compressibilidade seja o elemento mais estudado dentro da compressão de pós farmacêuticos, a análise completa deve contemplar necessariamente a compactabilidade e a comprimibilidade. A análise conjunta da dureza e da resistência à tensão radial dos comprimidos foi feita para todos os materiais testados, mas apenas os estudos provenientes do CF40 e CF80 e do adjuvante celulose microcristalina serão expostos (figura 8.5.6).

Assim como nos gráficos de densificação, os CF40 e CF80 mostram grande similitude. A partir da pressão 115 MPa ocorre estabilização da resistência à tensão

dos comprimidos de CF permanecendo constante. Esse comportamento tem sido verificado em outros trabalhos com granulados de produto seco por aspersão de extratos vegetais e pode indicar tendência à laminação e *capping* (RITSCHEL e BAUER-BRANDL, 2002; SPANIOL, 2007; SOARES e col., 2005). Soares e col. (2005) não constataram tal comportamento para o complexo farmacêutico pulverêo que apresentou, igualmente, a melhor comprimibilidade. Os comprimidos do presente trabalho não apresentaram sinais de laminação e *capping*. Há autores que só consideram válida essa inferência quando ocorre uma razoável diminuição na resistência à tensão (ADOLFSSON e NYSTRÖM, 1996).

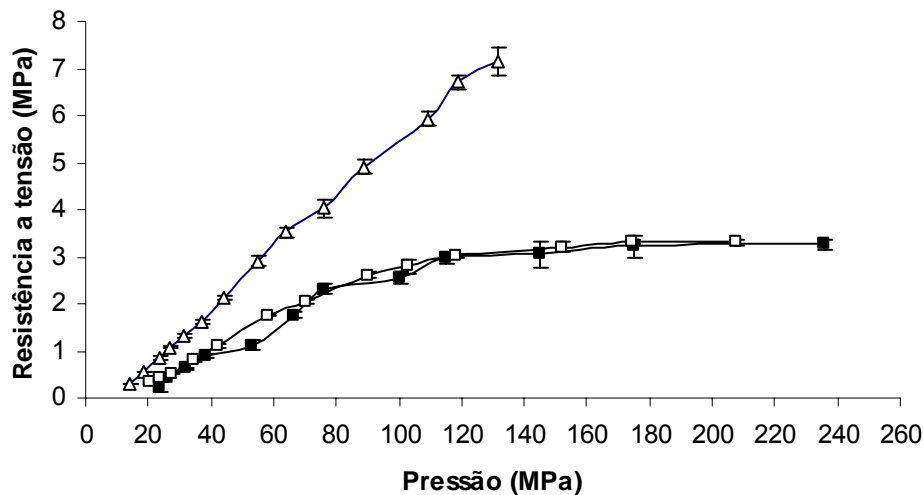


Figura 8.5.6. Comprimibilidade da celulose microcristalina (Δ) e dos complexos farmacêuticos CF40 (\square) e CF80 (\blacksquare)

Comparando com a celulose microcristalina, os CF foram visivelmente inferiores quanto à comprimibilidade. Tal fato se deve à recompressão dos GRPSA e a granulação por via úmida do GRADJ que enfraquecem a coesão da celulose microcristalina presente na formulação. Diversos trabalhos demonstram que a recompactação de granulados acarreta diminuição da comprimibilidade dos mesmos, principalmente, para celulose microcristalina (KOCHHAR e col., 1995; BULTMANN, 2002; SUN e HIMMELSPACH, 2006; HERTING e KLEINEBUDDE, 2008). Tal fato é atribuído ao aumento da granulometria (SUN e HIMMELSPACH, 2006), bem como ao enrijecimento que se deve ao enfraquecimento das deformações plásticas do material (SOARES e col., 2005; HERTING e KLEINEBUDDE, 2008). Ambos os

fatores parecem estar correlacionados com a diminuição da área superficial específica (HERTING e KLEINEBUDDE, 2008). O mesmo pode ser dito para o PSA. Quanto à granulação via úmida, esta pode favorecer uma alteração da cristalinidade dos constituintes e assim afetar a compactabilidade e comprimibilidade. Outrossim, as propriedades coesivas da celulose microcristalina e do PSA podem ser maiores que as adesivas entre os mesmos.

Tabela 8.5.5. Parâmetros de comprimibilidade dos complexos farmacêuticos CF40, CF80 e da celulose microcristalina

Material	Parâmetros	Índice de coesão (intervalo \pm 5%)	Intercepto	r^2	Faixa de tensão radial (MPa)
CF 40		0,0337 (0,0319; 0,0354)	-0,339	0,9878	0,322 – 2,605 (8 níveis)
CF 80		0,0353 (0,0317; 0,0388)	-0,529	0,9653	0,433 – 2,466 (6 níveis)
Celulose microcristalina		0,0598 (0,0589; 0,0608)	-0,509	0,9968	0,302 – 7,312 (14 níveis)

r^2 = coeficiente de determinação.

A comprimibilidade foi avaliada por meio da resistência à tensão radial para comprimidos convexos (PITT e col., 1988) em função da pressão. O emprego da regressão linear na faixa linear da curva permite obter, a partir dos dados da inclinação, o valor de índice de coesão (tabela 8.5.5). Além disso, o método da resistência à tensão para comprimidos convexos requer que exista uma relação linear entre a carga de fratura e a pressão executada na compressão, sendo assim a faixa linear também irá condizer com a faixa na qual se pode empregar de forma confiável este método (PITT e col., 1988).

O CF80 apresentou baixo coeficiente de determinação, mas dentro do limite pré-estabelecido de coeficiente de correlação superior a 0,95. Há que se ressaltar uma variedade de fontes de variação, tais como na determinação da dimensão dos comprimidos, na medida da carga de fratura e nos dados provenientes do sistema de avaliação da máquina de comprimir instrumentalizada. O intercepto que exclui o zero nas equações pode ser atribuído, pelo menos parcialmente, à presença de força residual de 442 N durante o experimento. O intervalo da inclinação (índice de coesão) permite

confirmar a semelhança dos CF40 e CF80, bem como a superior comprimibilidade da celulose microcristalina. Apesar do índice de coesão levar em consideração a pressão máxima de compactação este só possui validade para fins comparativos dentro da faixa linear. Os comprimidos finais (item 6.4.3.3) de ambos complexos foram produzidos com valor de resistência à tensão dentro das faixas apresentadas na tabela 8.5.5, sendo assim adequados para caracterização de compactos côncavos com aceitável certeza estatística.

A partir dos gráficos de compressibilidade e comprimibilidade se observa um comportamento similar entre a porosidade (por meio do logaritmo natural da recíproca) e a resistência à tensão. A análise da compactabilidade possibilita informar se ambas variáveis estão correlacionadas. Por meio da figura 8.5.7 se abstrai a relação aproximadamente linear entre ambas, o que sugere dependência da resistência à tensão em relação à porosidade.

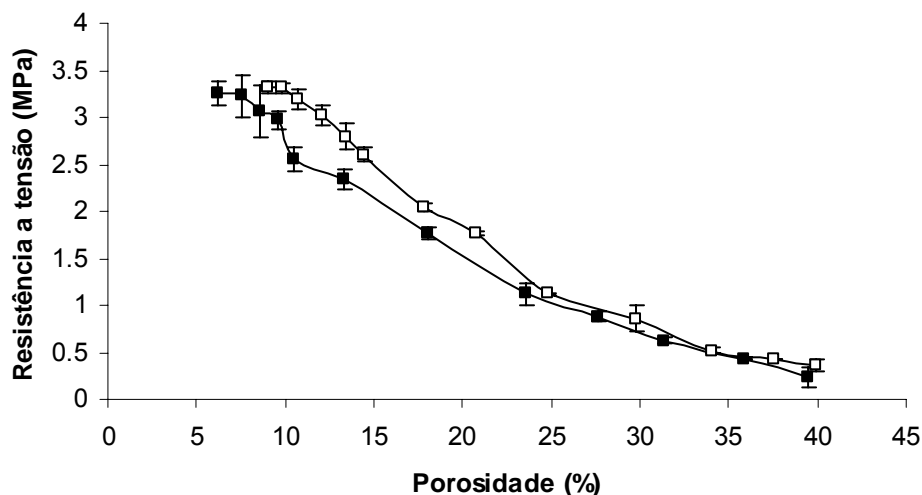


Figura 8.5.7. Compactabilidade dos complexos farmacêuticos CF40 (□) e CF80 (■)

A partir dos dados de compactabilidade é possível realizar uma extrapolação por meio do intercepto e se obter a resistência à tensão de comprimidos sem porosidade. Desta forma, resultaria numa caracterização de uma propriedade intrínseca do material (ADOLFSSON e NYSTRÖM, 1996). Para ser realmente válido, este parâmetro da compactabilidade deveria ser obtido com maior amostragem de compactos de baixa porosidade, a fim de se observar o comportamento mais próximo

da ordenada. De qualquer maneira, obteve-se a resistência à tensão teórica dos comprimidos de CF40 e C80 sem porosidade a partir do intercepto presente na tabela 8.5.6.

Na regressão para compactabilidade se empregou o logaritmo natural da resistência à tensão pela porosidade a fim de se obter um melhor ajuste do modelo linear (ADOLFSSON e NYSTRÖM, 1996). Todos os comprimidos de CF40 e CF80 foram empregados a fim de se alcançar valores de intercepto mais fidedignos. A inclinação próxima entre os CF evidencia similar compactabilidade que corrobora a análise gráfica (figura 8.5.7). Entretanto, os dados teóricos de resistência à tensão de compactos com zero de porosidade demonstram valores um pouco distintos entre os complexos farmacêuticos. A análise estatística dos interceptos, base para o cálculo da resistência à tensão teórica, evidencia diferença significativa entre os mesmos.

Assim como apresentado para comprimibilidade, a resistência à tensão teórica de compactos de celulose microcristalina com zero de porosidade reafirma a sua resistência mecânica intrinsecamente superior ao dos compactos de CF, a despeito da elevada concentração deste adjuvante na formulação final. Os dados de inclinação parecem, no entanto, não ser uma informação com grande poder discriminativo na avaliação da compactabilidade visto que são estatisticamente semelhantes entre os CF e a celulose microcristalina.

Tabela 8.5.6. Parâmetros da regressão linear da compactabilidade dos complexos farmacêuticos e da celulose microcristalina

Material	Parâmetros		Resistência à tensão de compacto sem poros (MPa)	r ²
	Inclinação	Intercepto		
CF 40	-0,0748 ^a	1,9923 ^a	7,333	0,9926
CF 80	-0,0761 ^a	1,8267 ^b	6,213	0,9812
Celulose microcristalina	-0,0808 ^a	3,3218 ^c	27,7113	0,9815

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem pelo teste *t* de Student $\alpha/2 = 0,05$ (CHARNET e col., 1999). r² = coeficiente de determinação.

8.6 CONCLUSÕES

- O estudo tribológico preliminar demonstrou adequação dos comprimidos de CF40 e CF80, bem como evidenciou a pouca influência da presença do estearato de magnésio dentro da formulação no tempo de desintegração. O índice de coesão dos comprimidos de CF40 mostrou maior sensibilidade ao tempo de mistura.
- A avaliação da compressibilidade dos PSA e produtos derivados pode ser realizada em máquina de comprimir rotativa instrumentalizada com punções côncavos pelo método *out of die* utilizando a equação de Heckel.
- O comportamento deformacional demonstrado para os PSA40 e PSA80 pode ser enquadrado no tipo C, deformação claramente plástica sem visível rearranjo espacial inicial e com platô nas maiores pressões. Semelhante comportamento foi apresentado para o GRPSA40 e GRPSA80, entretanto, com rearranjo.
- O GRADJ não apresentou distinção compressional quanto ao modo de adição do aglutinante, sendo semelhante ao adjuvante celulose microcristalina, seu componente majoritário.
- O CF40 e CF80 demonstraram um comportamento predominantemente plástico e intermediário entre a celulose microcristalina (Tipo A) e os PSA (Tipo C).
- A comprimibilidade e compactabilidade dos comprimidos de CF40 e CF80 denotaram grande proximidade entre ambos e clarividente inferioridade quando comparado a celulose microcristalina.

8.7 PERSPECTIVAS

Realizar estudo tribológico em misturadores de diferentes formatos e capacidades.

Realizar avaliação do comportamento compressional de PSA40, PSA80, GRADJ, CF40 e CF80 em máquina de comprimir ou prensa hidráulica

instrumentalizada com movimentação unidirecional e punções planas, a fim de comparar com os resultados obtidos.

Avaliar o efeito de vários ciclos de compressão sobre os perfis de compressibilidade, compactabilidade e comprimibilidade.

Avaliar a influência de formatos dos punções, bem como do enchimento da matriz sobre os parâmetros estabelecidos pela equação de Heckel.

Empregar outras equações para descrever a compressibilidade dos materiais.

8.8 REFERÊNCIAS

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

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

AULTON, M.E.; TEBBY, H.G. Hardness distributions over tablet faces with different curvatures. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 26, Suppl. p. 56P-60P, 1974.

BICA, V.C.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R. Expansão volumétrica de comprimidos de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* na forma de pó e de granulado. In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 18; Porto Alegre. **Programa e Resumos ...** Porto Alegre: UFRGS, 2006. p. 609, Res. 334.

BRAUN, M. Einflussfaktoren bei der Tablettierung magensaftresistent überzogener Pellets auf Exzenter- und Rundlauftablettenpresse. Tese-Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät, Rheinischen-Wilhelms-Universität Bonn, Bonn, 2003. Disponível em: <http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=96728211x&dok_var=d1&dok_ext=pdf&filename=96728711x.pdf>. Acesso em 31 set. 2009.

BOLHUIS, G.K.; CHOWHAN, Z.T. Materials for direct compaction. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 14, p. 419-500.

BOLHUIS, G.K.; HÖLZER, A.W. Lubricant sensitivity. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 16, p. 517-560.

BULTMANN, M. J. Multiple compaction of microcrystalline cellulose in a roller compactor. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, p. 59-64, 2002.

CHARNET, R.; FREIRE, A.D.L.; CHARNET, E.M.R.; BONVINO, H. **Análise de Modelos de Regressão Linear com Aplicações**. Campinas: Unicamp, 1999.

ÇELIK, M. Overview of compaction data analysis techniques. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, n. 6-7, p. 767-810, 1992.

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade da matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

FELL, J.T. Compaction properties of binary mixtures. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 15, p. 501-515.

FREITAG, F.; KLEINEBUDDE, P. How do compaction/dry granulation affect the tableting behaviour of inorganic materials? Comparison of four magnesium carbonates. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 19, p. 281-289, 2003.

HERTING, M.G.; KLEINEBUDDE, P. Studies on the reduction of tensile strength of tablets after roll compaction/dry granulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 372-379, 2008.

HOLZSCHUH, M. B. **Estudo da estabilidade de produtos secos obtidos a partir de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2008.

ILKKA, J.; PARONEN, P. Prediction of the compression behaviour of powder mixtures by the Heckel equation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 94, n.1-3, p. 181-187, 1993.

JOIRIS, E.; DI MARTINO, P.; BERNERON, C.; GUYOT-HERMANN, A.M.; GUYOT, J.C. Compression behavior of orthorhombic paracetamol. **Pharmaceutical Research**. v. 15, p. 1122-1130, 1998.

KIEKENS, F.; BEBUNNE, A.; VERVAET, C.; BAERT, L.; VANHOUTTE, F.; VAN ASSCHE, I.; MENARD, F.; REMON, J.P. Influence of the punch diameter and curvature on the yield pressure of MCC-compacts during Heckel analysis. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 22, n. 2-3, p. 117-126, 2004.

KOCHHAR, S. K.; RUBINSTEIN, M.H.; BARNES, D. The effects of slugging and recompression on pharmaceutical excipients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 115, p. 35-43, 1995.

KUNY, T.; LEUENBERGER, H. Compression behaviour of the enzyme β -galactosidase and its mixture with microcrystalline cellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 260, p. 137-147, 2003.

MITREVEJ, A.; FAROONGSARNG, D.; SINCHAIPANID, N. Compression behavior of spray dried rice starch. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 140, p. 61-68, 1996.

MÜLLER, F. Viscoelastic models. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 5, p. 99-132.

NYSTRÖM, C.; KAREHILL, P. The importance of intermolecular bonding forces and the concept of bonding surface area. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 2, p. 17-53.

PALMIERI, G.F.; JOIRIS, E.; BONACUCINA.; CESPI, M.; MERCURI, A. Differences between eccentric and rotary tablet machine in the evaluation of powder densification behaviour. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 298, p. 164-175, 2005.

PARONEN, P.; ILKKA, J. Porosity-pressure functions. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (Ed.). **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 3, p. 55-75.

PATEL, S.; KAUSHAL, A.M.; BANSAL, A.K. Compression physics in the formulation development of tablets. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 23, n. 1, p. 1-65, 2006.

PETROVICK, G. F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; STANLEY, P. Tensile fracture of doubly-convex cylindrical discs under diametral loading. **Journal of Materials Science**. v. 23, n. 8, p. 2723-2728, 1988.

PITT, K.G.; NEWTON, J.M.; RICHARDSON, R.; STANLEY, P. The material tensile strength of convex-faced aspirin tablets. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 41, p. 289-292, 1989.

RIEPMA, K.A.; LERK, C.F.; DE BOER, A.H.; BOLHUIS, G.K.; KUSSENDRAGER, K.D. Consolidation and compaction of powder mixtures. I. Binary mixtures of same particle size fractions of different types of crystalline lactose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 66, p. 47-52, 1990.

RITSCHER, W.A.; BAUER-BRANDL, A. **Die Tablette: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung**. 2. Aufl. Aulendorf: ECV, 2002. 647p.

SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; SCMIDT, P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extract. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E 359- 366, 2005.

SOARES, L.A.L.; PETROVICK, P.R. Física da compressão. **Caderno de Farmácia**, v. 15, n. 2, p. 65-79, 1999.

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

SUN, C.C.; HIMMELSPACH, M.W. Reduced tableability of roller compacted granules as a result of granule size enlargement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 1, p. 200-206, 2006.

THE UNITED States Pharmacopoeia. 27. rev. ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Easton: Mack, 2004.

VOIGT, R.; BORNSCHEIN, M. **Tratado de tecnologia farmaceutica**. 3 ed. Zaragoza: Acribia, 1982. Cap. 8, p. 176-224.

ZUURMAN, K.; MAARSCHALK, K.V.D.V.; BOLHUIS, G.K. Effect of magnesium stearate on bonding and porosity expansion of tablets produced from materials with consolidation properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 179, p. 107-115, 1999.

WATT, J.G.V.; VILLIERS, M.M. The effect of V-mixer scale-up on the mixing of magnesium stearate with direct compression microcrystalline cellulose. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 43, n. 1, p. 91-94, 1997.

WATT, P.R.; ARMSTRONG, N.A. **Tablet and capsule machine instrumentation**. London: RPS, 2008. 258p.

9 CAPÍTULO 8: VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

9.1 RELEVÂNCIA DO TEMA

Produtos fitoterápicos, normalmente, contêm múltiplos constituintes que podem ser responsáveis por seu efeito terapêutico. Deste modo, é necessário conhecer o máximo de constituintes possíveis para que se possa entender e explicar a sua atividade biológica. O conceito de fitoequivalência tem sido introduzido na Alemanha e assegura consistência na fitoterapia. De acordo com este conceito, o perfil químico do produto fitoterápico é construído e comparado com o perfil clinicamente aprovado do produto de referência (MARSTON e HOSTETTMANN, 2006; HE, 2000).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) possibilita, associada a outras técnicas analíticas, suprir essa demanda crescente por controle e garantia de qualidade para os produtos fitoterápicos. O aperfeiçoamento da instrumentação, materiais de empacotamento e tecnologia de colunas, introduzidas constantemente, tornam esta técnica cada vez mais atrativa. Em se tratando de flavonóides, o método de eleição para análise qualitativas e quantitativas é a CLAE (MARSTON e HOSTETTMANN, 2006).

O método de CLAE é considerado um método versátil, rápido, preciso e sensível. Quando acoplado a detector de arranjo de diodos permite auxiliar na identificação, bem como avaliar a pureza dos picos eluídos (MARSTON e HOSTETTMANN, 2006; ZUANAZZI e MONTANHA, 2003). Esta técnica analítica tem sido empregada para todas as classes de flavonóides e centenas de aplicações têm sido publicadas (RIJKE e col., 2006).

A relação entre a atividade farmacológica dos extratos de *Achyrocline satureioides* e a constituição flavonoídica do mesmo, justifica o interesse na separação dos seus flavonóides majoritários assim como na avaliação qualitativa e quantitativa.

9.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterização da matéria-prima vegetal e avaliação do método de doseamento para flavonóides de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. descrito na farmacopéia brasileira.
- Produção e caracterização de soluções extrativas obtidas a partir das inflorescências de *A. satureioides*.
- Desenvolvimento e validação de método para doseamento de quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina em soluções extrativas de *A. satureioides*.

9.3 REVISÃO DO TEMA

Sonaglio (1987) empreendeu o uso de CLAE para o doseamento de flavonóides do extrato hidroalcoólico a 80 % (v/v) de inflorescências de *Achyrocline satureioides*, previamente purificados por fracionamento com acetato de etila e subsequente ressuspensão em metanol. Após a otimização das condições de separação, a cromatografia foi desenvolvida em coluna de fase reversa (Spherical C18, 150 x 3,9 mm; 5 µm) com eluente metanol:ácido fosfórico a 1 % (v/v) na proporção (40:60, v/v), fluxo de 2,0 ml/min e detecção em 275 nm. Nessas condições não foi possível separar a luteolina da 3-*O*-metilquercetina.

Lemos-Senna (1993) alterou a coluna (Lichrosorb RP-18, 125 x 4 mm; 5 µm) e o fluxo (1,0 ml/min). Os sinais obtidos para quercetina apresentaram melhor resolução que nas condições precedentes, mesmo sem prévia purificação do extrato hidroalcoólico, no entanto, a separação da luteolina e 3-*O*-metilquercetina não foi alcançada.

Teixeira (1996) alterou o comprimento de onda para 370 nm e o sistema eluente para metanol e ácido fosfórico a 1 % (v/v) (50:50, v/v). A análise foi feita apenas para os produtos secos por aspersão. O aumento no tempo de retenção dos picos referentes aos flavonóides não permitiu separação da luteolina e 3-*O*-metilquercetina.

De Paula (1996) e Santos (1996) obtiveram picos mais resolvidos e definidos por meio do aumento do comprimento das colunas, respectivamente, Lichrosorb RP-18 e Lichrospher 100 RP-18 (250 x 4 mm; 5µm), diminuição do fluxo (0,6 ml/min), mudança na fase móvel para metanol e ácido fosfórico a 1 % (v/v) (53:47, v/v) e modificação na detecção (362 nm). Tais alterações, entretanto, resultaram em maior tempo de retenção e não possibilitaram, novamente, a separação da luteolina e da 3-*O*-metilquercetina que apresentaram tempo de retenção de 34 min.

De Souza (2002) usou as condições cromatográficas estabelecidas por Santos (1996) e De Paula (1996), entretanto, modificou a fase estacionária para a coluna Shim-pack CLC-ODS (M) (RP-18, 250 x 4 mm; 5 µm). Esta modificação permitiu, pela primeira vez, a separação da 3-*O*-metilquercetina e luteolina em extratos de *Achyrocline satureioides*. Este método foi validado segundo os parâmetros estabelecidos pelo ICH (1996) para a solução extrativa aquosa e as soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % e a 80 % (v/v). Os resultados demonstraram que o método proposto é linear, preciso e exato (De SOUZA e col.; 2002).

Apesar do grande avanço no doseamento dos flavonóides majoritários da planta, o método ainda demonstra carências. O elevado tempo de corrida (65 min) e a baixa resolução entre a luteolina e 3-*O*-metilquercetina corroboram essa afirmação.

9.4 PARTE EXPERIMENTAL

9.4.1 Materiais

9.4.1.1 Material vegetal

Foram utilizadas as sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., de plantas coletadas na época de sua floração, em abril de 2009, pela manhã, nos campos de Erechim, RS. O local de coleta estava afastado de estradas e cerca de 200 m de plantação de milho. A identificação da planta foi realizada no Instituto de Biociências, UFRGS, tendo sido depositada no seu herbário uma exsicata (nº ICN 153432).

9.4.1.2 Solventes, Reagentes e Padrões

Os solventes empregados para o sistema cromatográfico foram metanol (grau HPLC, J.T. Baker, Cidade do México/México), ácido ortofosfórico (p.a., Merck, Darmstadt/Alemanha), acetonitrila (grau HPLC, J.T. Baker, Cidade do México/México) e água ultrapura obtida de sistema Milli-Q (Millipore, Bedford/EUA). Para a produção da solução extrativa hidroalcoólica empregou-se etanol comercial (96 % v/v, Rebeschini Ltda, Porto Alegre/Brasil). Os solventes utilizados foram hexano (p.a., Nuclear, São Paulo/Brasil), acetato de etila (p.a., Vetec, Rio de Janeiro/Brasil), metanol (p.a., Nuclear, São Paulo/Brasil). Os padrões flavonoídicos utilizados foram luteolina (97 % pureza, Alfa Aesar, Ward Hill/EUA, lote 10054013) e quercetina (p.a., Sigma Aldrich, St. Louis/EUA, lote 90K1746). As soluções tampão de pH 6,86 e 4,01; respectivamente, DM-S1A e DM-S1B (Digimed, São Paulo/Brasil) foram empregadas na determinação do pH.

9.4.2 Equipamentos¹, acessórios e correlatos

Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu, equipado com bomba LC-10AD, injetor automático SIL-10A e detector UV/Vis SPD-20 AV, controlado pelo programa CLASS LC-10;

Aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Shimadzu tipo LC-20A equipado com bomba LC-20AT, injetor automático SIL-20A, forno de coluna CTO-20A e detector de arraste de diodo SPD-M20A controlado pelo programa LC-Solution Multi-PDA (BIOFITO/CDTF/UFRGS)¹;

Banho-maria de 6 bocas Biomatic modelo 106-2;

Coluna cromatográfica Phenomenex de aço inoxidável Synergi Polar-RP 4 µm, 150 x 4,6 mm d.i.;

Destilador de água modelo 2008, Labortechnik (Central de águas/FAR/UFRGS)¹;

Estufa de Secagem Biomatic 1305;

Evaporador rotatório Rotavapor Büchi modelo R-114;

Forno para colunas de Clae Hot Column, Cromacon Ciola (CDTF/ UFRGS)¹;

Manta de aquecimento Fisatom Modelo 52B;

¹ O autor agradece às Unidades citadas pela disponibilização dos equipamentos.

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

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

Moinhos de facas Retsch SK1 com abertura de malha de 1 mm (Laboratório de Fitoquímica/ FAR /UFRGS)¹;

Potenciômetro Digimed DM-20;

Pré-coluna cromatográfica Phenomenex Gemini C18, 4 x 3 mm d.i.;

Prensa hidráulica manual Hafico com capacidade de 5 L;

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

9.4.3 Métodos

9.4.3.1 Tratamento do material vegetal

As inflorescências, farmacógeno da planta, foram separadas manualmente do restante do vegetal, secas durante 14 dias, ao abrigo da luz solar direta e sob temperatura ambiente. A seguir as sumidades florais secas foram submetidas à cominuição em moinho de facas resultando na matéria-prima vegetal.

9.4.3.2 Caracterização da planta da matéria-prima vegetal

9.4.3.2.1 Determinação da perda por dessecação (FARMACOPÉIA, 1988)

A perda por dessecação foi determinada gravimetricamente se empregando cerca de 1,0 g da matéria-prima vegetal, pesada em pesa-filtros, previamente tarados. Procedeu-se conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira. Os resultados foram expressos pela média de 3 determinações.

9.4.3.2.2 Determinação do teor de extrativos (BUNDESVEREINIGUNG, 1986)

Cerca de 1,0 g de matéria-prima vegetal foi pesado, exatamente anotado, e submetido à extração com 100,0 ml de água, sob decocção, durante 10 min. Após arrefecimento e recomposição do volume perdido por ebulição com água, a solução foi filtrada, desprezando-se os primeiros 20 ml. Aliquotas de 20,0 g do filtrado foram

colocados em pesa-filtros, previamente tarados, e submetidos ao aquecimento em banho-maria até a secura. Após a evaporação completa, os pesa-filtros foram colocados em estufa a 105 °C durante 2 h e mantidos em dessecador por 20 min. O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem em estufa. Os resultados foram expressos pela média de 3 repetições, segundo a equação:

$$TE = \frac{g \cdot FD \cdot 100}{m - (m \cdot PPD \div 100)} \text{ (eq. 9.1)}$$

onde, TE = teor de extrativos (% m/m); g = massa (g) do resíduo seco; m = massa (g) da amostra; FD = fator de diluição (5) e PPD = perda por dessecação da amostra (% m/m).

9.4.3.2.3 Avaliação do teor de quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina por cromatografia líquida de alta eficiência (FARMACOPÉIA, 2001, modificado por BICA e col., 2009)².

O modo de preparo das amostras foi igual ao que consta na Farmacopéia Brasileira, entretanto o método de CLAE empregado foi o validado por Bica e col. (2009)² contido no manuscrito do artigo apresentado ao final deste capítulo.

Cerca de 18,0 gramas da matéria-prima vegetal, exatamente anotados, foram empacotadas em cartucho de papel filtro, inseridas em aparelho tipo Soxhlet e extraídas com 300 ml de *n*-hexano durante 3 h a fim de retirar substâncias apolares que interferem na molhagem do material na fase de extração. Desprezou-se o extrato de *n*-hexano e, a seguir, o marco foi extraído por mais 3 h com 300 ml de acetato de etila. O extrato foi levado à secura em evaporador rotatório sendo retomado em 10,0 ml de metanol. Alíquota de 1,0 ml foi diluída a 50,0 ml, completando-se o volume com metanol. Alíquota de 2,0 ml desta solução foi diluída a 20,0 ml se empregando como solvente de mistura metanol:ácido fosfórico a 0,1 % (1:1, v/v).

² BICA, V.C.; PIRAN, S.M.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. 2009. Manuscrito a ser submetido para publicação contido ao final deste capítulo 8 item 9.8.

As amostras foram filtradas por membrana de porosidade de 0,45 μm e injetadas (20 μl) em cromatógrafo líquido de alta eficiência. Realizaram-se três determinações com triplicata de cada injeção.

9.4.3.3 Preparação e caracterização das soluções extrativas

9.4.3.3.1 Preparação das soluções extrativas de *Achyrocline satureioides*

As soluções extrativas foram obtidas a partir de 75 g de matéria-prima vegetal seca por litro do líquido extrator. Procederam-se as extrações por decocção com água por 30 min sob temperatura de 90 °C e por maceração em solução hidroalcoólica a 40 e a 80 % (v/v) durante 8 dias, ao abrigo de luz, em temperatura ambiente e com agitação ocasional. A micela dos extratos foi filtrada através de papel filtro e o marco prensado em prensa hidráulica, sendo o volume de 1 litro reconstituído quando necessário com o líquido extrator (SONAGLIO, 1987; SANTOS, 1996; DE SOUZA, 2002).

9.4.3.3.2 Determinação do resíduo seco (DEUTSCHES, 1986)

Amostra de 20,0 g de solução extrativa foi pesada em pesa-filtro tarado e evaporada até secura em banho-maria. Posteriormente, o pesa-filtro foi colocado na estufa por 2 horas, a temperatura de 105 °C, arrefecido em dessecador e pesado. O processo foi repetido até peso constante com intervalos de 1 h de secagem em estufa. O resultado foi expresso em relação a 100,0 g do extrato, pela média de três determinações.

9.4.3.3.3 Determinação do pH e do pH aparente (FARMACOPÉIA, 1988)

A determinação do pH de amostra de 10,0 ml de solução extrativa aquosa e do pH aparente das soluções extrativas hidroalcoólicas foi realizada em peagômetro calibrado com soluções tampão pH 4,01 e 6,86. O resultado foi expresso pela média das triplicatas.

9.4.3.3.4 Determinação da densidade (FARMACOPÉIA, 1988)

A densidade das soluções extrativas a 25 °C foi determinada com auxílio de picnômetro. A análise foi realizada em triplicata.

9.4.3.3.5 Doseamento do teor de quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina por CLAE

A metodologia e os resultados estão apresentados no artigo intitulado *Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-O-methylquercetin in Achyrocline satureioides preparations*, apresentado ao final deste capítulo a ser encaminhado para publicação.

9.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A planta foi coletada por Jacir José Piran nos campos da cidade de Erechim (RS) durante o período de floração. Cuidado foi tomado para que a mesma estivesse afastada de possíveis focos de contaminação química e biológica. A caracterização da planta foi, basicamente, realizada tendo em vista sua identificação botânica, perda por dessecação, teor de extrativos e doseamento dos marcadores.

A garantia da espécie foi realizada pelo mestrando Tiago Luiz da Silva Alves (estudo com ênfase na família Asteraceae) do Departamento de Botânica do Instituto de Biociências da UFRGS sendo preparada uma exsicata do ramo da inflorescência.

A análise sensorial da planta evidenciou adequadas características, ausência de bolor, presença de aroma característico e coloração amarelo-dourada. A comparação da intensidade do odor ou coloração pode ser indicativa de condições inadequadas de armazenamento ou de prazo de validade ultrapassado (FARIAS, 2003).

O teor de umidade da matéria-prima vegetal é influenciado pelas condições edafoclimáticas no momento da coleta, assim como informa a eficiência da operação de secagem e do armazenamento. Devido ao baixo percentual de óleo volátil encontrado na espécie (LAMATY e col., 1991; LABUCKAS e col., 1999; LORENZO e col., 2000) se considerou a perda por dessecação (PPD) igual ao teor de umidade. A

PPD apresentou umidade residual de 10,67 % (m/m) o que denota valor dentro da faixa apresentada pela literatura para a inflorescência de marcela, de 9,03 até 13 %, e abaixo do limite máximo (14,0 %) preconizado para matérias-primas vegetais (DE SOUZA, 2002; ZHI-CEN, 1980). A proximidade com o valor limite dada pela Farmacopéia Brasileira (2001) para determinação de água (10 %) e a necessidade de aplicação de calor para o decréscimo de umidade que poderia resultar em degradação de compostos da matéria-prima foram fundamentações para a decisão. Desta maneira, a secagem adicional em estufa foi considerada desnecessária.

A determinação do teor de extrativos foi empregada unicamente para melhor caracterização da matéria-prima, muito embora, a água usada como líquido extrator nesta técnica possa auxiliar na inferência sobre a solução extrativa aquosa por decocção. O teor de extrativos foi de 8,42 % \pm 0,07 (m/m) que está aquém do comumente encontrado, que se situa entre 11,31 e 21,80 % (SONAGLIO, 1987; DE PAULA, 1996; SANTOS, 1996; TEIXEIRA, 1996; DA SILVA, 2003). Por meio do resultado não se pode inferir sobre a quantidade de aglicona flavonoídica presente no material visto que o líquido extrator não é seletivo para esses marcadores e outros elementos são extraídos.

A determinação do teor dos flavonóides marcadores está sumarizada na tabela 9.5.1. As curvas dos padrões foram as mesmas empregada durante a validação visto que as análises foram realizadas conjuntamente. Os resultados demonstram elevada concentração de flavonóides na matéria-prima vegetal. Comparando o resultado com o obtido por Petrovick (2006), observa-se aproximadamente o dobro da concentração de quercetina e luteolina, no entanto, valores próximos para a 3-*O*-metilquercetina.

A farmacopéia define como conteúdo mínimo de quercetina e luteolina, respectivamente, 0,14 % e 0,07 % (m/m). Estes requisitos foram amplamente sobrepujados, principalmente, para quercetina. Há que se ressaltar a coleta seletiva visto que apenas as plantas mais viçosas foram coletadas, bem como a secagem do material vegetal à temperatura ambiente, não a expondo a elevadas temperaturas.

Além disso, fatores relacionados com a localização geográfica do plantio, condições edafoclimáticas e o genótipo da planta podem explicar esse elevado percentual.

Tabela 9.5.1 Doseamento dos marcadores flavonoídicos na matéria-prima vegetal de *Achyrocline satureioides*

Flavonóide	Concentração (% m/m) Média ± s (dpr %) (n = 3)	Concentração (% m/m)* Média ± s (dpr %) (n = 3)
Quercetina	0,365 ± 0,002 (0,63)	0,162 ± 0,002 (1,51)
Luteolina	0,112 ± 0,001 (0,66)	0,062 ± 0,000 (0,52)
3-O-metilquercetina	0,363 ± 0,002 (0,69)	0,383 ± 0,001 (0,27)

* dados retirados de Petrovick (2006): inflorescências de *A. satureioides* (Lam.) DC., foram colhidas em abril de 2004 em área de cultivo (CPQBA/UNICAMP), tendo sofrido secagem adicional em estufa de ar circulante sob temperatura de 35 ± 2 °C por um período de 4 dias.

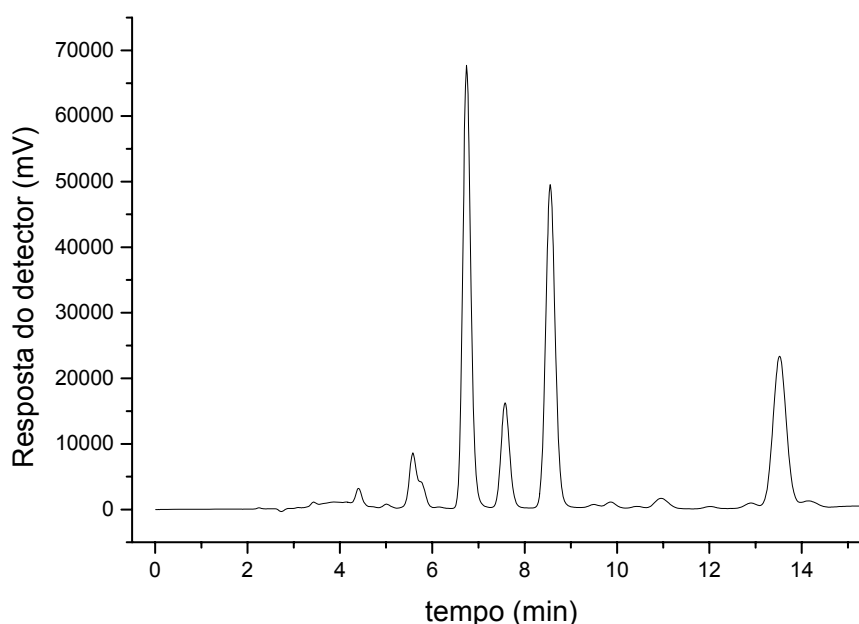


Figura 9.5.1. Cromatograma da fração flavonoídica de *A. satureioides*, analisada pelo método validado por CLAE

O cromatograma representativo das análises é apresentado na figura 9.5.1 e torna clara a boa resolução dos picos, bem como a adequação do método cromatográfico. A confirmação dos picos foi realizada pelo emprego dos padrões quercetina e luteolina.

A produção das soluções extrativas (EX) foi baseada em trabalhos prévios de Sonaglio (1987), Santos (1996) e De Souza (2002). O objetivo da produção das três soluções extrativas foi, primeiramente, avaliar se o método desenvolvido por CLAE

poderia ser empregado na quantificação dos flavonóides marcadores (quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina) nas mesmas.

O desenvolvimento do método por CLAE foi realizado inicialmente com os produtos secos por aspersão (PSA40 e PSA80) empregados neste trabalho. A seguir, empregaram-se os padrões flavonoídicos (luteolina e quercetina) e as três EX para o ajuste final do método. A validação foi desenvolvida para as EX, entretanto, mostrou ser plenamente satisfatória também para produtos secos por aspersão como visto no item 2.5. Embora os PSA40, PSA80 e as EX sejam oriundos de matérias-primas vegetais diferentes, coletados em localidades e épocas distintas, o que acrescenta fatores ligados à variabilidade intrínseca da planta, aliada aos fatores relacionados ao processamento tecnológico, o fato de se ter obtido cromatogramas qualitativamente muito semelhantes reafirma a robustez do método.

As EX foram submetidas à análise do resíduo seco, pH (aparente ou não) e densidade por picnometria sendo os resultados apresentados na tabela 9.5.2.

Tabela 9.5.2. Resultados da caracterização das soluções extrativas obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides*

Solução Extrativa	pH \pm s	Densidade (g/ml) \pm s	RS (% m/m) \pm s
EXaq	5,23 \pm 0,01	1,0034 \pm 0,0002	0,60 \pm 0,01
EX40	5,21 \pm 0,02	0,9441 \pm 0,0005	1,39 \pm 0,02
EX80	5,13 \pm 0,01	0,8609 \pm 0,0005	1,31 \pm 0,01

EXaq = solução extrativa aquosa obtida por decoção; EX40 = solução extrativa hidroalcoólica 40 % (v/v) obtida por maceração; EX80 = solução extrativa hidroalcoólica 80 % (v/v) obtida por maceração; RS = resíduo seco.

Importante se ressaltar que o mesmo protocolo de extração vem sendo utilizado em vários trabalhos neste grupo de pesquisas, tendo como matéria-prima vegetal as sumidades de *A. satureioides*, o que permite a comparação direta das características determinadas para as soluções extrativas.

Os valores de pH encontrados para as EX pouco diferiram entre si, entretanto, cabe ressaltar que para as EX hidroalcoólicas se obteve o pH aparente (solução não aquosa). As EX com caráter ácido podem ser atribuíveis, em parte, pela presença de ácidos fenólicos (ex. ácido cafêico) o que auxilia na conservação das agliconas

flavonoídicas presentes. O valor de pH de 5,13 apresentado para solução extrativa aquosa (EXaq) está dentro da faixa apresentada pela literatura de 4,99 – 5,58 (SONAGLIO, 1987; LEMOS-SENNA, 1993; DE PAULA, 1996; DE SOUZA, 2002).

A densidade das soluções extrativas foi similar ao apresentado por De Souza (2002), visto que são, principalmente, dependentes do líquido extrator. A autora encontrou valores de 1,00; 0,96 e 0,88, respectivamente, para as EX aquosa, etanólica a 40 % e etanólica a 80 %. De Paula (1996) verificou para a EX etanólica a 80 % valor de densidade igual a 0,86. Igualmente, Petrovick (2006) e Da Silva (2003) constataram para EX etanólica a 40 % valor de densidade de 0,94. Estes dados atestam a influência determinante da composição do líquido extrator.

O resíduo seco é um parâmetro empregado como medida da eficiência de extração do solvente sendo, no entanto, inespecífica. Além disso, possibilita o cálculo das concentrações dos adjuvantes de secagem usados na produção do PSA (DE SOUZA, 2002).

O valor de resíduo seco apresentado para a EXaq se mostrou baixo quando comparado aos citados na literatura, de 0,82 % (SANTOS, 1996) e 1,06 % (DE SOUZA, 2002). Esse resultado era previsto pelo baixo teor de extrativos apresentado pela matéria-prima vegetal. Apesar disso, os valores de resíduo seco na EX40 foi superior aos valores de 0,925 %, 1,09 %, 0,951 % e 1,037 % apresentados, respectivamente, por Sonaglio (1987), De Souza (2002), Da Silva (2003) e Petrovick (2006) para soluções extrativas similares.

O resíduo seco da EX80 apresentou valor intermediário, sendo superior aos dados obtidos por Sonaglio (1987), de 1,02 e por De Souza (2002), de 1,24; mas inferior aos valores determinados por Lemos-Senna (1993), Teixeira (1996) e De Paula (1996), respectivamente, de 1,47 %; 1,50 % e 1,73 %. Ao contrário das EX examinadas por Sonaglio e De Souza, que apresentaram maior resíduo seco para as maiores graduações alcoólicas dos líquidos extratores, o maior valor neste trabalho foi encontrado para a EX40.

Quanto ao teor dos flavonóides marcadores, como já era previsto, ocorreu um aumento com a diminuição da polaridade das EX. A EXaq apresentou cerca de 10 vezes menor concentração que a EX40 e a EX80, justificando a diluição apenas destes últimos em 1:10 durante a validação. Apesar disso, a diferença entre os valores das EX etanólicas foi pequena, comparativamente, às obtidas por De Souza (2002). A pesquisadora encontrou teores de quercetina e luteolina para a EX80 cerca de 2 vezes maiores que a EX40, embora tenha apresentado valores de 3-*O*-metilquercetina próximos. Da mesma forma, De Souza não observou tanta discrepância entre os valores da EXaq e as demais EX.

Tabela 9.5.3. Concentração de quercetina (Q), luteolina (L) e 3-*O*-metilquercetina (3MQ) (mg/ml) das soluções extrativas (EX).

Solução Extrativa	Quercetina Média ± s (dpr %)	Luteolina Média ± s (dpr %)	3- <i>O</i> -Metilquercetina Média ± s (dpr %)
EXaq	0,053 ± 0,001 (2,94)	0,026 ± 0,001 (3,20)	0,074 ± 0,003 (4,73)
EX40	0,584 ± 0,003 (0,61)	0,231 ± 0,003 (1,39)	0,717 ± 0,007 (0,98)
EX80	0,675 ± 0,018 (2,68)	0,256 ± 0,007 (2,89)	0,788 ± 0,017 (2,15)

EXaq = solução extrativa aquosa obtida por decoção; EX40 = solução extrativa hidroalcoólica 40 % (v/v) obtida por maceração; EX80 = solução extrativa hidroalcoólica 80 % (v/v) obtida por maceração; *a concentração de 3-*O*-metilquercetina foi expressa em relação à luteolina.

A diferença apresentada entre os trabalhos reside fundamentalmente nos fatores relacionados ao material vegetal empregado, visto que o método extrativo permaneceu o mesmo. O resíduo seco das EX explica os divergentes resultados. Ao contrário dos dados obtidos por De Souza (2002), o resíduo seco da EX40 teve uma leve superioridade ao apresentado pela EX80. O maior resíduo seco, no entanto, não resultou na maior concentração de flavonóides, devido à maior seletividade do solvente etanólico a 80 % para as agliconas.

Outra diferença notável reside nos elevados teores flavonoídicos apresentados na tabela 9.5.3 quando comparados aos dados de De Souza (2002) e Petrovick (2006) para as EX80 e EX40. Tais diferenças podem ser atribuídas, exclusivamente, a matéria-prima vegetal visto que a caracterização das soluções extrativas não deixa dúvidas da graduação alcoólica dos mesmos (tabela 9.5.2) e o procedimento foi seguido conforme padronizado em trabalhos anteriores. Especificamente na comparação com os dados de Petrovick, se observa que os valores de 3-*O*-

metilquercetina do EX40 foram, relativamente, próximos e a luteolina duplicou conforme apresentado no doseamento da matéria-prima vegetal. Não obstante, para a quercetina o teor é quadruplicado e não duplicado como é apresentado no doseamento da matéria-prima vegetal. Tais concentrações elevadas fizeram com que uma etapa adicional de diluição fosse necessária para o preparo das amostras durante a validação.

A grande diferença apresentada entre a EXaq e as outras soluções extrativas reside no menor resíduo seco e na baixa seletividade, devido a solubilidade, para as agliconas flavonoídicas marcadoras da planta.

A pureza dos sinais foi garantida por CLAE com detector PDA que obteve o valor máximo de índice de pureza do pico (1,0) e não detectou presença de impureza em nenhum dos sinais correspondente aos flavonóides das EX (inclusive pico da bichalcona). A confirmação dos flavonóides foi realizada por meio do espectro de UV apresentado pelo PDA, bem como por meio da adição de padrões de luteolina e quercetina nas soluções extrativas.

A fim de avaliar o rendimento (% m/m) das soluções extrativas com relação ao teor de flavonóides por proporção ponderal de matéria-prima vegetal se comparou com os resultados advindos do doseamento dos marcadores da planta (tabela 9.5.1). Dados aparentemente anômalos foram obtidos. Os rendimentos de extração flavonoídica tanto da EX40 quanto da EX80 foram claramente superiores aos obtidos pelo método preconizado pela Farmacopéia (2001). Para o EX80 se obtiveram para quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina, respectivamente, os valores de 0,900; 0,341 e 1,050 (% m/m). Tais valores são cerca de duas vezes e meia maiores que os dados pelo método de doseamento.

A suspeita de inadequação do método de doseamento para a quantificação dos flavonóides marcadores, semelhante ao ocorrido no item 2.5, foi confirmada. O erro na realização do método de doseamento preconizado e a possível influência da mudança ocorrida no sistema cromatográfico foram descartados, quando se constatou que semelhante fato ocorreu em trabalhos pregressos.

A partir dos dados de Petrovick (2006) foi possível constatar, da mesma forma, uma quantificação superior para a solução extrativa etanólica a 40 % (v/v) de *A. satureioides* quando comparado ao doseamento realizado na matéria-prima vegetal do mesmo trabalho. Os valores apresentados para a solução extrativa de teor de quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina foram, respectivamente, de 0,166; 0,133 e 0,685 (% m/m). Estes valores quando comparados com os dados apresentados na tabela 9.5.1 evidenciam igual concentração para a quercetina, entretanto, valores de cerca de duas vezes superior para luteolina e a 3-*O*-metilquercetina. A inobservância destes resultados se deve, provavelmente, ao modo distinto de expressá-los.

O método de doseamento de flavonóides *A. satureioides*, descrito na Farmacopéia (2001), provem do estudo de otimização realizado por De Souza (2002). Neste se produziram várias frações por meio de soxhlet e de percolação com diferentes solventes. A fração acetato de etila, obtida após prévia extração da matéria-prima com *n*-hexano foi eleita por ser seletiva, ou seja, a mais alta concentração de flavonóides por resíduo seco. Tal era objetivo da otimização realizada, obter fração flavonoídica purificada para os testes bioquímicos. Não obstante, observando os dados de De Souza fica evidente que a fração eleita não é a melhor para extrair totalmente os flavonóides.

A percolação com acetato de etila, a despeito da maior quantidade de matéria-prima vegetal usada, apresenta superior teor para os flavonóides marcadores quando comparado ao método por soxhlet com o mesmo solvente. Ainda assim, a percolação com acetato de etila é muito inferior à extração com metanol por percolação ou por soxhlet. Tal fato se deve ao elevado valor de resíduo seco neste último que não foi levado em consideração na escolha feita por De Souza (2002). As conclusões aqui tiradas foram baseadas nos dados presentes na tese de doutorado (DE SOUZA, 2002) e consideraram a quantia total extraída das frações por meio dos valores totais de resíduo seco e da concentração dos flavonóides nestes. A autora não expressou nenhum comentário sobre o melhor método para extração total de flavonóides da matéria-prima vegetal.

Como descrito no item 2.5, o solvente acetato de etila não parece ser adequado para extração total de flavonóides de *A. satureioides*. Tal fato decorre do seu baixo poder de eluição e penetração aliado a incapacidade de romper vacúolos onde, freqüentemente, os flavonóides estão localizados.

Tais explicações justificam os resultados apresentados nas EX e abrem perspectivas para o desenvolvimento de novos métodos de doseamento. A consciência da inadequabilidade deste método só foi obtida durante a análise dos resultados e elaboração deste manuscrito, não havendo tempo hábil para proposição de outros métodos. Entretanto, a extração por meio de soluções hidrometanólicas com método de extração que aumente área de contato com o meio e rompam vacúolos da célula vegetal, tal como a turbólise, pode ser uma alternativa interessante.

9.6 CONCLUSÕES

- A caracterização da matéria-prima vegetal atestou a adequabilidade da mesma para produção das soluções extrativas.
- As soluções extrativas hidroalcoólicas apresentaram teor de flavonóides superiores ao método de doseamento por CLAE preconizado pelo código oficial. A literatura corrobora a incapacidade deste método de extrair totalmente os compostos flavonoídicos.
- A despeito da elevada concentração de flavonóides atribuída à matriz vegetal, as soluções extrativas mostraram resultados adequados e coerentes podendo, deste modo, ser utilizada no desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE.
- O método desenvolvido para doseamento dos compostos flavonoídicos de soluções extrativas da inflorescência de *A. satureioides* por CLAE apresentou tempo de corrida curto e boa resolução dos sinais sendo, por tanto, validável. A validação confirmou que o método cumpre os requisitos para a determinação dos marcadores flavonoídicos.

9.7 REFERÊNCIAS

BUNDESVEREINIGUNG Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.) **Deutscher Arzneimittel - Codex. 1986.** Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986, v.1, Codex – Probe, p. 4, 9.

DA SILVA, D.M. **Desenvolvimento de forma farmacêutica semi-sólida contendo extrato padronizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2003.

DE PAULA, I.C. **Desenvolvimento tecnológico da forma farmacêutica plástica, contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC Compositae - Marcela.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

DE SOUZA, K.C.B. **Avaliação biológica de preparações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela).** Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

DE SOUZA, K.C.B.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L. LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 771-777, 2002.

DEUTSCHES Arzneibuch. 9. Ausgabe. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1986.

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C.MO. e col. (Org.). FARMACOGNOSIA da planta ao medicamento. 5. Ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003. Cap. 12, p. 263-288.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. 400p.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 2001. p. 158-1 a 158-7.

HE, X-G. On-line identification of phytochemical constituents in botanical extracts by combined high-performances liquid chromatographic-diode array detection-mass spectrometric techniques. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p. 203-232, 2000.

ICH. International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) **Q2(R1). Validation of analytical procedures: Text and Methodology**, 1996.

LABUCKAS, D.O.; MAESTRI, D.M.; GROSSO, N.R.; ZYGADLO, J.A. Essential oils of *Achyrocline satureioides*, *Achyrocline alata* and *Achyrocline tomentosa*. **Planta Medica**, v. 65, p. 184-186, 1999.

LAMATY, G.; BÉSSIÈRE, J.M.; SCHENKEL, E.P.; SANTOS, M.; BASSANI, V.L. The chemical composition of some *Achyrocline satureioides* and *Achyrocline alata* oils from Brazil. **Brazilian Journal of Essential Oil Research**, v. 3, p. 317-321, 1991.

LORENZO, D.; ATTI-SERAFINI, L.; SANTOS, A.C.; FRIZZO, C.D.; PAROUL, N.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; MOYNA, P.; *Achyrocline satureioides* essential oils from southern Brazil and Uruguay. **Planta Medica**, v. 66, p. 476–477, 2000.

LEMOS-SENNA, E.M.T. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1993.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Separation and quantification of flavonoids. In: ANDERSEN, O.M.; MARKHAM, K.R. (Ed.) **Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2006. Cap. 1, p. 1-36.

PETROVICK, G.F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por spray drying de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Asteraceae (marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

RIJKE, E.; OUT, P.; NIESSEN, W.M.A.; ARIESE, F.; GOOIJER, C.; BRINKMAN, U.A.T. Analytical separation and detection methods for flavonoids. **Journal of Chromatography A**, v. 1112, p. 31-63, 2006.

SANTOS, A.L.G. **Estudo tecnológico e biológico de soluções extrativas aquosas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

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

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 (Marcela)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

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

ZUANAZZI, J.A.S.; MONTANHA, J.A. Flavonóides. In: SIMÕES, C.M.O. e col. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5 ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2003. Cap. 23, p. 577-614.

9.8 Artigo: Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para quantificação dos marcadores flavonoídicos presentes em soluções extrativas de *Achyrocline satureioides*

Improvement of a HPLC method for determination of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations¹

V.C. Bica, S.M. Piran, V.L. Bassani, P.R. Petrovick*

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

Abstract

Achyrocline satureioides has great importance within the traditional medicine in South America which is supported by several phytochemical and pharmacological studies. Its extracts shown, among others effects, anti-inflammatory, immunomodulatory and antioxidant activities. These pharmacological effects may be attributed partly to the flavonoids present in extracts, mainly quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin. The method of choice for the qualitative and quantitative analysis of flavonoids is HPLC. Previous work has reached separation of flavonoids by HPLC and validated the method. However, the proposed procedure yet shows low resolution between luteolin and 3-*O*-methylquercetin and a long run time. This paper aims the development and validation of a HPLC method applied to three different *A. satureioides* preparations.

Results = An efficient HPLC method intended for the qualitative and quantitative analysis of the main flavonoids of the extracts was developed with short analysis time (15 min) and high resolution for the flavonoid peaks. The method was adequately validated in accordance with the requirements of the ICH.

Keywords: *Achyrocline satureioides*; Quercetin; Luteolin; HPLC; Flavonoid; Validation

1. Introduction

Achyrocline satureioides (Lam.) D.C. (compositae) is an aromatic annual herb native to South America used in folk medicine. Its extracts shown, *in vitro* and *in vivo* animal models, anti-inflammatory, immunomodulatory and antioxidant activities [1-10]. Experimental data demonstrated other effects of its extracts, such as hepatoprotective [11], smooth muscle relaxant [2,12], antiglycant and hypoglycemic [13, 14], antispasmodic [15] and antiviral [16,17].

Several of these pharmacological activities may be attributed to the flavonoids present in the extracts, mainly, quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin [6,18]. The relationship between the flavonoids and the evidenced pharmacological effect justified the interest of quantify these constituents in phytopharmaceutical preparations [19].

The method of choice for the qualitative and quantitative analysis of flavonoids is HPLC [20]. HPLC methods have been reported to assess flavonoids in extracts of *A. satureioides* [19,21]. Lemos-Senna *et al.* employed a LC technique to quantify quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *A. satureioides* preparations, but did not achieve a sufficient separation of the last two flavonoids [21]. De Souza *et al.* attained the separation of

¹ Manuscrito de artigo elaborado conforme formato do periódico **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**

luteolin from 3-*O*-methylquercetin with a LC technique, however it showed low resolution and long run time [19].

Therefore the aims of this work were the development and validation of a HPLC method applied to *A. satureioides* preparations with high resolution and short run time for the major flavonoids.

2. Experimental

2.1. Chemical and reagents

Acetonitrile (HPLC grade, J. T. Baker, Mexico City, Mexico), Methanol (HPLC grade, J. T. Baker, Mexico City, Mexico), phosphoric acid (Merck, Darmstadt, Germany) and ultrapure water from Milli-Q system (Millipore, Bedford, USA) were used for the mobile phase preparation. Luteolin (Alfa Aesar, Ward Hill, MA, lot = 10054013) and quercetin (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, lot = 90K1746) were used as external standard.

2.2 HPLC system

The development of the chromatographic method and validation were carried out with a Shimadzu liquid chromatograph type LC-10A equipped with a pump (LC-10 AD), a gradient controller (FCV-10 AL), an autosampler (SIL-10 A) and a UV/vis detector (SPD-20 AV), controlled by CLASS LC-10 software (Shimadzu, Kyoto, Japan). A Shimadzu liquid chromatograph type LC-20A equipped with a pump (LC-20AT), an autosampler (SIL-20A), column oven (CTO-20A), diode array detector (SPD-M20A, range 190-800 nm) with data management software LC-Solution Multi-PDA was used to check the peak purity of each compound (Specificity). The column was a Synergi Polar-RP 150 x 4,6 mm i.d., 4 µm (Phenomenex, Torrance, CA) protected by a pre-column Phenomenex (4 x 3 mm i.d.) packed with Gemini C18.

The mobile phase consisted of a mixture of acetonitrile-methanol-water phosphoric acid 0.16 M (8.84:41.07:50.09, w/w/w). After filtration (0.45 µm, Millipore, Bedford, MA) and degassing with helium, an isocratic elution was performed at a flow rate of 0.8 ml/min with controlled temperature at 30 ± 1 °C. The injection volume was 20 µl and the peaks were detected at 362 nm.

2.3 Samples Preparation

2.3.1 Extract preparation

Achyrocline satureioides shrubs were collected at a farm in Erechim, RS, Brazil (GPS area centered at 27° 39' 58" S and 52° 14' 29" O). After botanical identification a voucher specimen was deposited at the University herbarium (n° ICN 153432, Instituto de Biociências, UFRGS). The plant was dried at ambient temperature for 14 days. After manual separation the inflorescences were reduced in a knife mill (Retsch SK1, outlet sieve 1,0 mm).

The extractive solutions from the inflorescences prepared at 7,5 % (w/v) were obtained by decoction with water for 30 min (ESwat), and by maceration in ethanol 40 % (ES40) and 80 % (ES80) for 8 days. All the extractive solutions were filtered through filter paper using a 5-L hydraulic press (Hafico) and the volume was made up to 1 L with the respective solvent [19].

2.3.2 Preparations of flavonoid and extractive solutions curves

Quercetin and luteolin standards were dissolved in methanol – phosphoric acid 16 mM (50:50, v/v) yielding concentrations of 1, 2.5, 5, 7.5, 10.0 and 20.0 µg/ml and additionally 0.5 µg/ml for luteolin. The concentration of the 3-*O*-methylquercetin was expressed as luteolin. For the analytical curve of ES40 and ES80, a stock solution (10.0 ml of each extractive solution extract in 100.0 ml hydroalcoholic solution) was diluted with methanol – phosphoric acid 16 mM (50:50, v/v) yielding concentrations of 5, 10, 15, 20, 25 µl/ml based on the dry residue. Samples of the ESaq yielding concentrations of 50, 100, 150, 200 and 250 µl/ml were, directly, diluted in methanol – phosphoric acid 16 mM (50:50, v/v).

All samples were filtered through a 0,45 µm membrane (Millipore-HVHP, Bedford, USA). Each analysis was repeated three times and the calibration curves were fitted by linear regression.

2.4. Validation Parameters

The method linearity, detection and quantification limits, precision, specificity and accuracy were evaluated according to the ICH guidelines [22].

The linearity was determined for the curves obtained by HPLC analysis of the standard solutions (quercetin and luteolin) and for the three peaks of the extractive solution (ESwat, ES40 and ES80). The slope and the other statistics parameters of the curves were calculated by linear regression.

The limit of quantification (LOQ) was calculated based on the S.D. of the intercept and the slope (S) of the curves.

Repeatability was evaluated from the R.S.D. of six determinations (ES40 and ES80) at a concentration of 15 µl/ml. The intermediate precision was evaluated in sixuplicate for 3 days.

The peaks of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in the extract were identified comparing the retention time against the standards, by spiking of small amounts of the standard substances to the sample, and by diode array spectra.

The accuracy was evaluated through recovery studies by adding known amounts of quercetin and luteolin to the hydroalcoholic extracts (ES40 and ES80) with a concentration of 10 µl/ml. Controls from all samples were prepared and analyzed. The recovery experiment was performed at three concentration levels (65, 100 and 135 %) such that the final concentrations still fall within the linear range of the analysis [22].

3. Results and discussion

A broad variety of solvent systems based on acetonitrile, methanol, acids (phosphoric, acetic, formic, trifluoroacetic) combined or not with tetrahydrofurane were tested to improve the separation of flavonoids and reduce the run time. The optimized HPLC conditions started after preliminary assays with columns Shim-pack CLC-ODS (M) RP-18, 5µm, 250 x 4 mm i.d. (Shimadzu); Gemini RP-18, 5 µm, 150 and 250 x 4.6 mm (Phenomenex) and Synergi Polar-RP (Phenomenex).

The column Synergi Polar-RP was chosen due to the observed improvement of the resolution of the flavonoids, mainly luteolin and 3-*O*-methylquercetin, and lower total run time. Octadecylsilane columns (RP18) present higher hydrophobicity and weaker steric interaction capacity which could explain the lower efficiency in this separation.

The mobile phase acetonitrile:methanol:water was found to be suitable, although phosphoric acid was capital to decrease tailing of the flavonoids peaks ($t_Q = 1.17$, $t_I = 1.11$, $t_{mQ} = 1.10$) An isocratic system was chosen to minimize the variation of the baseline and appearance of ghost peaks. Considering the sample composition complexity and the measured

chromatographic parameters, a good separation could be archived within a run time of 15 min.

The representative chromatographic profile (Figure 1a and 1b) of the extracts ES40, ES80 showed resolved peaks of the chosen flavonoids ($R_{S_{Q-L}} = 2.46 \pm 0.04$; $R_{S_{L-3MQ}} = 2,66 \pm 0.04$).

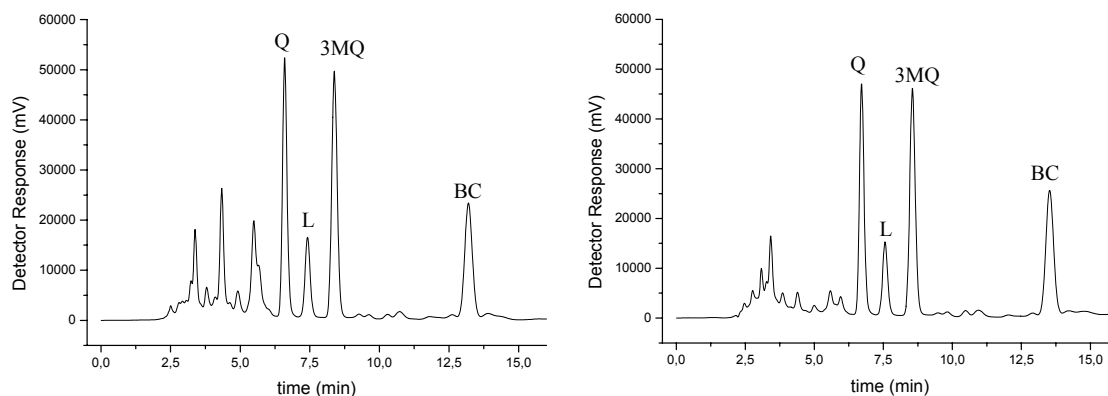


Figure 1. Chromatographic profile of the extractive solutions ES80 (1a) and ES40 (1b). Q, quercetin; L, luteolin; 3MQ, 3-*O*-methylquercetin; BC, bichalcone.

Peak purity was determined by diode array analysis, in order to demonstrate that each chromatographic peak was not attributable to more than one component. The peak purity indexes (PPI) calculated for ES40 and ES80 were equal to one for all the main flavonoids (including the bichalcone). The single point threshold of quercetin, luteolin, 3-*O*-methylquercetin and bichalcone were, sequentially, 0.9997; 0.9973; 0.9996 and 0.9979. The diode array spectra (data not shown) of each peak in the extractive solutions were identical to the isolated substances, confirming their identities.

For linearity evaluation, solutions of the standard substances were prepared at six concentrations levels in the range of 1.0 to 20.1 $\mu\text{g/ml}$ for quercetin and at seven concentrations levels in the range of 0.5 to 20.6 $\mu\text{g/ml}$ for luteolin. The representative linear equation for quercetin and luteolin were, respectively, $y = 65242.5 - 1134.1$ ($r^2 = 0.9996$) and $y = 62718.9 - 1455.1$ ($r^2 = 0.9996$). The R.S.D. values of the slope of the lines were, respectively, 0.87 % and 0.84 % for quercetin and luteolin. Both linear regression data presented absence of outliers, systematic errors (linear intercept confidence limits include the zero within it) or deviation from linearity as well as normality and homocedasticity. The LOQ were, respectively, 0.52 and 0.40 $\mu\text{g/ml}$ for quercetin and luteolin. Therefore the concentration of 0.5 $\mu\text{g/ml}$ for quercetin was withdrawn from the analysis due to its proximity from its LOQ and its high response variation, which confirms the suitability of the predicted LOQ value.

Table 1 shows the concentration of the three flavonoids in the extracts obtained from the calculated concentration curve. The concentration of 3-*O*-methylquercetin was expressed as luteolin. Both substances presented fast the same spectroscopic behavior [results not shown], thus the results could be normally accepted. The ES80, ES40 and ESwat presented, in descending order, the concentration of flavonoids quercetin, luteolin e 3-*O*-methylquercetin, demonstrating that these were better extracted with solvent of lower polarity, corroborating with the literature [19]. Quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin presented, respectively, retention times of 6.6, 7.4 and 8.4 min. The R.S.D. of the retention times were less than 1.5 % in all cases.

Table 1
Concentration of quercetin (Q), luteolin (L) and 3-*O*-methylquercetin (3MQ) in the extractive solutions.

Data	ESwat			ES40			ES80		
	Q	L	3MQ*	Q	L	3MQ*	Q	L	3MQ*
Concentration (µg/ml)	53.24	26.18	73.98	584.4	231.6	716.9	674.9	256.1	788.2
R.S.D.	2.94	3.20	4.73	0.61	1.39	0.98	2.68	2.89	2.15

ESwat, aqueous extractive solution; ES40, ethanol 40 % (v/v) extractive solution; ES80, ethanol 80 % (v/v) extractive solution;

*3-*O*-methylquercetin expressed as luteolin.

The concentration data of *A. saturoioides* extracts were evaluated by regression analysis and the resulting parameters are summarized in table 2. High coefficients of determination were obtained for all peaks in the ASwat, AS40 e AS80. The determination coefficient values were greater than 0.99, thus the calculated regression curves could explain more than 99 % of the experimental variance. Similarly to standard solutions, absence of outliers, systematic errors (except for ES80) or deviation from linearity were observed. The ES80 data suggests that the complex matrices interfered in the detector response for all analyzed flavonoids causing a systematic error. The LOQ values were, clearly, lower than the first point of the curves.

Table 2
Linearity data for the flavonoids quercetin (Q); luteolin (L) and 3-*O*-methylquercetin (3MQ) from the extractive solutions (ES), evaluated by regression analysis

ES	Slope			Intercept			Coefficient determination		
	Q	L	3MQ*	Q	L	3MQ*	Q	L	3MQ*
ESwat	165305.6	1628.8	210243.5	21952.8	4844.2	54288.0	0.9944	0.9954	0.9930
ES40	38474.0	14729.7	45230.8	-3371.0	-1415.4	-2632.8	0.9996	0.9988	0.9996
ES80	47005.1	17327.7	52068.0	-54279.8	-22425.5	-48555.5	0.9982	0.9984	0.9986

ESwat, aqueous extractive solution; ES40, ethanol 40 % extractive solution; ES80, ethanol 80 % extractive solution;

*3-*O*-methylquercetin expressed as luteolin.

The precision (repeatability and intermediary precision) and the accuracy (recovery) were determined for ES80 and ES40. The repeatability and the intermediary precision of ES80 and ES40 were fully satisfactory even considering the complexity of the sample matrix (table 3). The low R.S.D. for the luteolin, compared to other work [19], can be explained by its resolved peak. For the majority of cited compounds present in phytochemical mixtures this parameter ranged from 3 to 6 % [23].

The recovery values of spiked quercetin solution (65, 100 and 135 %) were, respectively, 102.0, 97.8, 99.3 % for ES80; and 97.7, 99.2 and 96.3 % for ES40. The recoveries of added luteolin standard solution were 100.5, 103.1 and 102.0 % for ES80; and 97.6, 99.2 and 100.2 % for ES40. Comparatively to the accuracy data presented by De Souza (2002) to both flavonoids, a substantial improvement occurred in this essential validation's parameter. Although a systematic error was detected for ES80, an excellent recovery was obtained for all analyzed peaks.

Table 3

Repeatability and intermediate precision for the flavonoids quercetin (Q), luteolin (L) and 3-*O*-methylquercetin (3MQ) from the extractive solutions ES40 and ES80.

Parameter \ Sample	Repeatability (R.S.D.)			Intermediate Precision (R.S.D.)		
	Q	L	3MQ*	Q	L	3MQ*
ES40	2.61	4.00	2.91	3.31	5.38	3.00
ES80	1.04	0.85	0.93	1.83	3.40	1.67

ES40, ethanol 40 % extractive solution; ES80, ethanol 80 % extractive solution,

*3-*O*-methylquercetin expressed as luteolin.

4. Conclusion

An efficient HPLC method intended for the qualitative and quantitative analysis of the main flavonoids of *Achyrocline satureioides* extracts was developed and successfully validated.

Owing to a shorter analysis time and high resolved and pure peaks, this HPLC method can be utilized to quality control of *A. satureioides* extracts which have folk great importance and a wide range of pharmacological activities.

Acknowledgements

The authors thank the Ph.D. student Mr. Cabral Pavei for the measurements at the LC-diode array equipment and to the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development, CNPq, for the financial support.

References

- [1] V.H. Wagner, A. Proksch, I. Riess-Maurer, A. Vollmar, S. Odenthal, H. Stuppner, K. Jurcic, M. Le Turdu, J.N. Fang, Immunstimulierend wirkende Polysaccharide (Heteroglykane) aus höheren Pflanzen, *Arzneim.-Forsch* 35 (1985) 1069-1075.
- [2] C.M.O. Simões, E.P. Schenkel, L. Bauer, A. Langeloh, Pharmacological investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Compositae, *J. Ethnopharmacol.* 22 (1988) 281-293.
- [3] J. Puhmann, U. Knaus, L. Tubaro, W. Schäfer, H. Wagner, Immunologically active metallic ion-containing polysaccharide of *Achyrocline satureioides*, *Phytochemistry* 31 (1992) 2617-2621.
- [4] A.L.G. Santos, D. Ripoll, N. Vardi, V.L. Bassani, Immunomodulatory effect of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. aqueous extracts, *Phytother. Res.* 13 (1999) 65-66.
- [5] D. Calvo, L.N. Cariddi, M. Grosso, M.S. Demo, A.M. Maldonado, Antimicrobial activity on *Staphylococcus* spp. and immunomodulating effects on human lymphocytes, *Rev. Latinoam. Microbiol.* 48 (2006) 247-255.
- [6] K.C.B. De Souza, V.L. Bassani, E.E.S. Schapoval, Influence of excipients and technological process on anti-inflammatory activity of quercetin and *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. extracts by oral route, *Phytomedicine* 14 (2007) 102-108.
- [7] M. Consentino, R. Bombelli, E. Caracano, A. Luini, F. Marino, F. Crema, F. Dajas, S. Lecchini, Immunomodulatory properties of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. infusion: a study on human leukocytes, *J. Ethnopharmacol.* 116 (2008) 501-507.
- [8] C. Desmarchelier, J. Coussio, G. Ciccia, Antioxidant and free radical scavenging effect in extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. ("marcela"), *Braz. J. Med. Biol. Res.* 31 (1998) 1163-1170.
- [9] M.F. Arredondo, F. Blasina, C. Echeverry, A. Morquio, M. Ferreira, J.A. ABIN-Carriquiry, L. Lafon, F. Dajas, Cytoprotection by *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C. and Some of its main flavonoids against oxidative stress, *J. Ethnopharmacol.* 91 (2004) 13-20.

- [10] M. Polydoro, K.C.B. De Souza, M.E. Andrades, E.G. Da Silva, F. Bonatto, J. Heydrich, F. Dal-Pizzol, E.E.S. Schapoval, V.L. Bassani, J.C.F. Moreira, Antioxidant, a pro-oxidant and cytotoxic effects of *Achyrocline satureioides* extracts, *Life Sci.* 74 (2004) 2815-2826.
- [11] C. Kadarian, A.M. Broussalis, J. Miño, P. Lopez, S. Gorzalczy, G. Ferraro, C. Acevedo, Hepatoprotective activity of *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C., *Pharm. Research* 45 (2002) 57-61.
- [12] O. Hnatyszyn, V. Moscatelli, R. Rondina, M. Costa, C. Arranz, A. Balaszczuk, J. Coussio, G. Ferraro, Flavonoids from *Achyrocline satureioides* with relaxant effects on the smooth muscle of Guinea pig corpus cavernosum, *Phytomedicine* 11 (2004) 366-369.
- [13] A. Gugliucci, T. Menini, Three different pathways for human LDL oxidation are inhibited in vitro by water extracts of the medicinal herb *Achyrocline satureioides*, *Life Sci.* 71 (2002) 693-705.
- [14] J.R. Carney, J.M. Krenisky, T. Williamson, J. Luo, Achyrofuran, a new antihyperglycemic dibenzofuran from the South American medicinal plant *Achyrocline satureioides*, *J. Nat. Prod.* 65 (2002) 203-205.
- [15] L. Filot da Silva, A. Langeloh, A comparative study of antispasmodic activity of hydroalcoholic 80 % (v/v) extracts of *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Asteraceae) with papaverine and atropine on rat isolated jejunum, *Acta Farm. Bonaerense* 13 (1994) 35-40.
- [16] S.M. Zanon, F.S. Ceriatti, M. Rovera, L.J. Sabini, B.A. Ramos, Search for antiviral activity of certain medicinal plants from Cordoba, Argentina, *Rev. Latinoam. Microbiol.* 41 (1999) 59-62.
- [17] J.M.R. Bettega, H. Teixeira, V.L. Bassani, C.R.M. Barardi, C.M.O. Simões, Evaluation of the antiherpetic activity of standardized extracts of *Achyrocline satureioides*, *Phytother. Res.* 18 (2004) 819-823.
- [18] G.E. Ferraro, C. Norbedo, J.D. Coussio, Polyphenols from *Achyrocline satureioides*, *Phytochemistry* 20 (1981) 2053-2054.
- [19] K.C.B. De Souza, E.E.S. Schapoval, V.L. Bassani, LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations, *J. Pharm. Biomed. Anal.* 28 (2002) 717-777.
- [20] A. Marston, K. Hostettmann, Separation and quantification of flavonoids, in: O.M. Andersen, R.M. Markham (Eds.), *Flavonoids: chemistry, biochemistry and applications*, Taylor & Francis, New York, 2006, pp. 1-36.
- [21] E. Lemos-Senna, P.R. Petrovick, G. Gonzalez Ortega, V.L. Bassani, Preparation and characterization of spray-dried powders from *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC extracts, *Phytother. Res.* 2 (1997) 123-127.
- [22] International Conference on the Harmonization of Technical Requirements for the Registration of Pharmaceuticals for Human Use (ICH) Q2B. Validation of analytical procedures. Methodology, 1996.
- [23] W. Andlauer, M.J. Martena, P. Fürst, Determination of selected phytochemicals by reversed-phase high-performance liquid chromatography combined with ultraviolet and mass spectrometric detection, *J. Chromatogr. A* 849 (1999) 341-348.

10 DISCUSSÃO GERAL

Os PSA40 e PSA80, base do presente trabalho, demonstraram propriedades tecnológicas deficientes advindas, especialmente, das suas pequenas dimensões. A elevada área superficial específica resulta em coesão do material pulveréneo que torna sua reologia deficiente e o empacotamento instável. Problemas reológicos e de empacotamento acarretam em preenchimento insuficiente e irregular da matriz. Como observado para os briquetes (item 3.5), assemelhado à compressão direta, a variação do peso médio, embora possa estar dentro dos limites farmacopéicos, pode resultar em amplificação da variação nas características tecnológicas sensíveis a esse parâmetro como, por exemplo, nas propriedades mecânicas.

Os PSA40 e PSA80 apresentaram apenas diferenças inerentes às suas soluções extrativas de origem, tais como densidade. Quanto às características tecnológicas, a semelhança entre os mesmos se deve ao processo de obtenção igual, mormente, o método de secagem.

Aliado a sua elevada área superficial, a presença de compostos fenólicos, açúcares, sais e biopolímeros tornam os PSA, especialmente, sensíveis à umidade atmosférica (item 7.5). Da mesma forma, sua alta composição em substratos orgânicos os torna susceptíveis ao ataque microbiológico e degradação química.

Todas essas características indicam sua inadequabilidade à produção de comprimidos por compressão direta. A opção natural é a granulação como etapa intermediária (item 4.5). Dentre os processos de granulação, inegavelmente, devido à ausência de exposição à umidade, ao calor e a solventes orgânicos, a via seca por desagregação é a escolha mais interessante. Igualmente, possui maior praticidade e amplo emprego em trabalhos de produtos secos por aspersão de extratos vegetais (COUTO, 2000; SOARES e col., 2005; DE SOUZA, 2004; PETROVICK, 2006; SPANIOL, 2007). Por outro lado, a granulação causa melhoria de propriedades originais dos PSA.

No presente trabalho se observou manutenção dos marcadores flavonoídicos, bem como notória melhoria das propriedades tecnológicas, haja vista o seu substancial incremento dimensional (itens 2.5 e 3.5). Os GRPSA40 e GRPSA80 demonstraram propriedades semelhantes, muito embora, as densidades (bruta e de compactação) e a distribuição granulométrica foram levemente distintas. Apesar destes aspectos favoráveis, diversos estudos relatam à diminuição da comprimibilidade dos compostos submetidos a mais de um ciclo de compressão (KOCHHAR e col., 1995; BULTMANN, 2002; SUN e HIMMELSPACH, 2006; HERTING e KLEINEBUDDE, 2008). A formação de comprimidos com elevada resistência mecânica e uniformidade de conteúdo atesta adequabilidade tecnológica dos GRPSA (item 6.5). Além disso, o estudo de física de compressão evidenciou similar comportamento compressional entre os GRPSA e os PSA originários (item 8.5).

A formulação empregada para a produção de briquetes foi a eleita no trabalho de Petrovick (2006), onde uma alta proporção ponderal de celulose microcristalina (28 %, m/m) juntamente com o sistema lubrificante foi acrescida a fim de melhorar as propriedades compressionais. Diferentemente do trabalho de Petrovick, entretanto, incluiu-se um desintegrante de vasto emprego, amidoglicolato de sódio, a fim de melhorar as propriedades biofarmacêuticas dos briquetes e, por conseguinte, dos comprimidos finais (item 6.5). Para os briquetes da formulação BF40SA um maior tempo de desintegração foi observado evidenciando a importância do desintegrante nesta formulação. Os briquetes apresentaram medida de dureza anômala provinda de deformação plástica, especialmente aqueles oriundos de PSA80, o que dificultou a comparação entre os mesmos. O mesmo não foi observado para o complexo farmacêutico final tanto durante o estudo de física da compressão quanto na produção dos comprimidos finais (itens 8.5 e 6.5.).

A presença de desintegrante e material de enchimento na formulação da fase externa, sob a forma de pó, devido às patentes diferenças granulométricas, resultaria em segregação como relatado por Couto (2005). Sendo assim, para que fossem incluídas homoganeamente na formulação constituída de GRPSA, empregou-se a estratégia de granulação da fase externa por meio da via úmida por desagregação

aplicada em trabalhos anteriores (COUTO, 2005; SPANIOL, 2007). Esta estratégia permite a adição dos componentes com igual granulometria do GRPSA, bem como proporciona melhorias compressivas advindas da adição de aglutinante e da ausência de compactação prévia, o que, por sua vez, se traduz em maior conservação das propriedades compressivas da celulose microcristalina. Entretanto, o acréscimo desta etapa necessitou de uma otimização de formulação, como realizado por Couto (2005).

O aglutinante eleito foi a metilcelulose de baixo grau de viscosidade devido a sua versatilidade que concede aos granulados e comprimidos robustez e estabilidade nas suas propriedades tecnológicas em função do tempo de armazenamento (KHANKARI e HONTZ, 1997). O estudo de formulação preliminar apontou para processo de baixo rendimento com grânulos friáveis pelo modo de aplicação extemporânea da metilcelulose (1,0 - 4,5 %, m/m). O acréscimo de aglutinante possibilitou melhora, entretanto, ainda insatisfatória. A alteração do modo de preparo resultou em melhoria que para se tornar visível e quantificável foi explorada por delineamento experimental por fatorial 2^2 com duas repetições. Os dois fatores utilizados foram o modo de preparo e a concentração do aglutinante. Este estudo evidenciou a superioridade da adição de dispersão do aglutinante, sobretudo, para a concentração de 9 % (m/m) diante de parâmetros críticos, tais como rendimento e friabilidade. O estudo dos comprimidos oriundos dos granulados do desenho fatorial demonstrou propriedades similarmente adequadas entre estes. O estudo de física da compressão corroborou com essas informações atestando ainda compressibilidade semelhante ao apresentado pela celulose microcristalina (item 8.5). O tempo de desintegração em todas as formulações foi inferior a 1 min e contribuiu substancialmente para a rápida desintegração dos comprimidos finais (item 6.5) visivelmente inferiores as dos briquetes (item 3.5).

O granulado co-processado de adjuvantes eleito (GRADJ9%DIS) foi produzido em seis lotes e, a seguir, separado e padronizado conforme a distribuição granulométrica dos GRPSA40 e GRPSA80 correspondentes. A distribuição granulométrica bimodal do GRADJ9%DIS difere grandemente da apresentada pelos GRPSA, decorrendo o baixo rendimento global na produção de granulados

padronizados (item 4.5). A análise da higroscopicidade dos GRADJ, apesar de apresentar menores sorção e histerese quando comparadas aos PSA e produtos derivados, confirmou a sorção ainda alta para os mesmos (item 7.5). Tal fato explica a sorção apresentada pelos comprimidos de GRADJ que resultou em aumento das suas massas durante o curto tempo de exposição à umidade ambiental.

O complexo farmacêutico elaborado evidenciou características apropriadas para compressão, bem como propriedades dependentes da proporção ponderal dos constituintes (item 6.5). Semelhante comportamento foi apresentado durante estudo de física da compressão, porém as características parecem ser dependentes da proporção volumétrica e grau de fragmentação das estruturas secundárias dos seus constituintes (item 8.5). Os comprimidos foram obtidos a partir de máquinas de comprimir rotativas instrumentalizadas com punções côncavas em diferentes velocidades de rotação.

Apesar da ausência de laminação, *capping* e aderência, fenômeno de percolação e incipiente escurecimento foram observados nos comprimidos. Por meio de *software* de imagem e devido à clara diferença de coloração entre o GRADJ e o GRPSA, foi possível quantificar a área entre as faces e mensurar a cor por meio de padrões RGB. Estas análises confirmaram a avaliação subjetiva de segregação. A diferença entre as densidades dos granulados constituintes dos CF foi à primeira explicação óbvia (itens 4.5 e 5.5). Não obstante, a presença de menor área de GRADJ na face superior contrapõe esta hipótese. Spaniol (2007) obteve complexos farmacêuticos de granulados com semelhantes propriedades, oriundos dos mesmos processos de granulação e, igualmente, observou percolação dos comprimidos. A face inferior, da mesma forma, apresentou aparente maior área de granulados co-processado de adjuvantes, bem como partículas menores. A presença de partículas menores foi observada também no presente trabalho, entretanto, devido à elevada sobreposição dos GRADJ uma mensuração exata foi impossível. Uma plausível hipótese aventada leva em consideração a maior fragilidade do GRADJ. Devido à elevada fragmentação sob baixas forças compressionais sofrida pelo GRADJ (item 8.5), a alteração granulométrica ocorre durante o processo de compressão e resulta em menores partículas oriundas do GRADJ comparativamente ao GRPSA correspondente. Sendo

assim, as partículas de menor granulometria do GRADJ percolam, resultando na maior presença destes na face inferior dos comprimidos.

O peso médio dos comprimidos apresentou, a despeito do adequado cumprimento farmacopéico, distinto comportamento frente às velocidades de rotação empregadas durante a compressão. O CF80 mostrou insensibilidade em relação às rotações empregadas, enquanto o CF40 apresentou clara flutuação no peso médio dependente desta variável. Uma explicação única parece ser imprudente haja vista ser o enchimento de matriz um processo multifatorial que envolve variáveis de processo e de formulação (SINKA e col., 2004; JACKSON e col., 2007; SINKA e col., 2009). Este parâmetro crucial afetou todas as outras características tecnológicas dos CP40.

A dureza e a resistência à tensão para comprimidos convexos dependeram diretamente da velocidade de rotação, notadamente, para o CP40. Tal dependência advém de suas propriedades, predominantemente, visco-plásticas (item 8.5) que tornaram o *dwell time* o fator principal para a explicação das variações de resistência mecânica entre as diferentes velocidades. A aplicação da resistência à tensão para comprimidos biconvexos foi possível devido às faixas dimensionais dos comprimidos adequadas para sua aplicação, bem como a confirmação da linearidade na análise da comprimibilidade (item 8.5). Novamente, o CF80 mostrou maior robustez frente à velocidade de rotação, muito embora, tenha apresentado significativa queda na dureza e resistência à tensão na maior velocidade de rotação. Igualmente ao observado para dureza, cujos valores estão bem acima dos mínimos preconizados pela farmacopéia, a resistência à abrasão e à queda foi muito aquém do valor limite.

A velocidade rotação não influenciou a higroscopicidade dos comprimidos (item 7.5). Além disso, a produção da forma farmacêutica final não conferiu grande proteção à sorção de umidade e diminuição da histerese, havendo clara necessidade de empregar outras estratégias visando à maior proteção dos mesmos (ex. revestimento com filmes hidrossolúveis).

A uniformidade de conteúdo demonstrou a adequação das etapas precessoras, tais como tempo de mistura. Outrossim, evidenciou a inexistência de segregação

específica entre os componentes e de degradação dos marcadores flavonoídicos que poderia ser originada nos diversos passos do processamento.

O estudo de dissolução confirmou que os CP40 e CP80 são comprimidos de rápida liberação corroborando com os dados da desintegração. Os perfis de dissolução dos flavonóides marcadores para ambas as formulações foram semelhantes, sendo evidenciados por diferentes métodos discriminativos e pela análise gráfica. A equação de Weibull possibilitou um acréscimo informativo sobre o formato dos perfis e T_d , parâmetro oriundo desta equação, foi mais fidedigno aos dados do que o parâmetro cinético $t_{50\%}$.

A análise qualitativa e quantitativa do conteúdo dos marcadores nos produtos iniciais, intermediários e finais só foi possível devido ao estudo da dissolução dos PSA40 e PSA80 em diferentes meios visando à dissolução total da quercetina, luteolina e 3-*O*-metilquercetina para seus doseamentos por CLAE. Este estudo demonstrou a inadequabilidade do método de extração prévia para recuperação total dos marcadores flavonoídicos nos PSA do presente trabalho (item 2.5). Da mesma forma, o estudo evidenciou que as soluções hidroetanólicas 60 % e 85 % (v/v) dissolvem eficazmente as substâncias de interesse não apenas, respectivamente, no PSA40 e PSA80, mas também nos produtos derivados. Tal fato foi confirmado pela quantificação dos GRPSA e CP, cujos resultados se aproximam muito do valor teórico calculado a partir de uma mistura homogênea (itens 4.5 e 6.5). A influência dos adjuvantes contidos nos PSA, além dos adicionados, posteriormente, nas etapas de granulação e de compressão não resultou em evidente diminuição da recuperação dos mesmos. A fim de comprovar sua adequação uma ampliação posterior da validação obtida poderá incluir os PSA, GRPSA e CP.

O elevado tempo de corrida (65 min) aliado a ainda baixa resolução dos flavonóides luteolina e 3-*O*-metilquercetina levaram a imperativa necessidade de desenvolvimento de um método alternativo por CLAE para o doseamento dos marcadores de *Achyrocline satureioides* (item 9.5). Tal método foi desenvolvido com os PSA, sendo a seguir realizado o seu ajuste fino com as soluções extrativas

produzidas conforme trabalhos anteriores (SONAGLIO, 1987; SANTOS, 1996; DE SOUZA, 2002).

Uma diminuição considerável no tempo de corrida (15 min) e sensível melhora na resolução foi possível com emprego de sistema isocrático [acetonitrila-metanol-ácido fosfórico 0,16 M (8,84:41,07:50,09; m/m)], fluxo de 0,8 ml/min em coluna Synergi Polar-RP (150 x 4,6 mm i.d., 4 µm) e temperatura controlada de 30 ± 1°C. Para se obter esse resultado inúmeros sistemas eluentes e algumas colunas foram testados. Não foram alterados do método anterior validado (DE SOUZA e col., 2002) o comprimento de onda do detector (362 nm) e o agente supressor de ionização, ácido fosfórico, apesar das inúmeras tentativas de substituí-lo por ácidos volatilizáveis (ex. ácido fórmico, ácido acético, TFA) para o uso posterior sem adaptações do sistema eluente em LC-MS.

A fim de validar, prévia caracterização da matéria-prima vegetal e das soluções extrativas se fez necessária. A matéria-prima vegetal apresentou elevado teor dos flavonóides marcadores que acarretou, igualmente, em concentração elevada dos mesmos nas soluções extrativas hidroalcoólicas. Comparando os valores flavonoídicos das soluções extrativas hidroalcoólicas com o doseamento da matéria-prima vegetal preconizado pela farmacopéia se obteve valores menores para esse último. Essa inconformidade com o objetivo de quantificação total dos flavonóides marcadores é corroborado por dados de Petrovick (2006) e, notadamente, do trabalho base para o doseamento (DE SOUZA, 2002).

A validação confirmou os pressupostos iniciais e foi realizada conforme os critérios estabelecidos pelo ICH. A robustez do método, excluído da validação, foi observada, entretanto, na avaliação da aplicação dos mesmos para os diferentes extratos vegetais, oriundos de três drogas de *A. satureioides* de origens distintas, assim como para os produtos intermediários e finais (itens 2.5, 4.5 e 6.5). Este método validado foi possível de ser aplicado em todas as análises por CLAE.

Os resultados demonstraram, de modo geral, viabilidade na produção de comprimidos de extratos secos de PSA40 e PSA80 de *Achyrocline satureioides*,

necessitando, entretanto, de maiores estudos farmacocinéticos e ensaios clínicos para a confirmação das suas potencialidades. Outrossim, o revestimento dos comprimidos com filmes hidrossolúveis permitiria diminuir a higroscopicidade inerente dos PSA e melhorar suas propriedades organolépticas deficientes, sem afetar fortemente a biodisponibilidade.

11 CONCLUSÃO GERAL

Comprimidos obtidos a partir de granulado de produto seco por aspersão de soluções extrativas hidroalcoólicas a 40 % e 80 % (v/v) e granulado co-processado de adjuvantes apresentaram promissoras características provindas das boas propriedades tecnológicas e da manutenção dos marcadores flavonoídicos. As pequenas diferenças tecnológicas observadas entre os PSA e seus produtos derivados foram advindas da procedência de diferentes soluções extrativas.

12 REFERÊNCIAS FINAIS

BULTMANN, M.J. Multiple compaction of microcrystalline cellulose in a roller compactor. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, p. 59-64, 2002.

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

COUTO, A.G. **Desenvolvimento tecnológico de comprimidos a partir de granulados do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* e controle de qualidade da matéria-prima vegetal a partir do seu cultivo**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2005.

DE SOUZA, K. C. B. **Avaliação biológica de preparações obtidas a partir das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Marcela)**. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2002.

DE SOUZA, K.C.B.; SCHAPOVAL, E.E.S.; BASSANI, V.L. LC determination of flavonoids: separation of quercetin, luteolin and 3-*O*-methylquercetin in *Achyrocline satureioides* preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 771-777, 2002.

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

HERTING, M.G.; KLEINEBUDDE, P. Studies on the reduction of tensile strength of tablets after roll compaction/dry granulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 372-379, 2008.

JACKSON, S.; SINKA, I.C.; COCKS, A.C.F. The effect of suction during die fill on a rotary tablet press. **European Journal of Pharmacy and Biopharmacy**, v. 65, n. 2, p. 253-256, 2007.

KHANKARI, R.K.; HONTZ, J. Binders and Solvents. In: PARIKH, D.M. (Ed.). **Handbook of Pharmaceutical Granulation Technology**. New York: Marcel Dekker, 1997. Cap. 4, p. 59-74.

KOCHHAR, S.K.; RUBINSTEIN, M.H.; BARNES, D. The effects of slugging and recompression on pharmaceutical excipients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 115, p. 35-43, 1995.

PETROVICK, G.F. **Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulado revestido contendo produto seco por *spray drying* de *Achyrocline satureioides* (Lam.) D.C. Asteraceae (marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2006.

SANTOS, A. L. G. **Estudo tecnológico e biológico de soluções extrativas aquosas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Marcela).** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 1996.

SINKA, I.C.; SCHNEIDER, L.C.R.; COCKS, A.C.F. Measurement of the flow properties of powders with special reference to die fill. **International Journal of Pharmacy**, v. 280, p. 27-38, 2004.

SINKA, I.C.; MOTAZEDIAN, F.; COCKS, A.C.F.; PITT., K.G. The effect of processing parameters on pharmaceutical tablet properties. **Powder Technology**, v. 189, p. 276-284, 2009.

SOARES, L.A.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETOVICK, P.R.; SCHMIDT, P.C. Dry granulation and compression of spray-dried plant extracts. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. 3, p. E359 – E366, 2005.

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

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

SUN, C.C.; HIMMELSPACH, M.W. Reduced tableability of roller compacted granules as a result of granule size enlargement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 1, p. 200-206, 2006.