



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE GRÂNULOS
DO EXTRATO DE QUEBRA-PEDRA (*PHYLLANTHUS
NIRUNI L.*) RECOBERTOS EM LEITO DE JORRO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Shirley Waleska Cavalcante Araújo

Campina Grande, PB

2009

**ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE GRÂNULOS DO
EXTRATO DE QUEBRA-PEDRA (*PHYLLANTHUS NIRUNI L.*)
RECOBERTOS EM LEITO DE JORRO**

por

Shirley Waleska Cavalcante Araújo

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, Área de Concentração em Desenvolvimento de Processos Químicos, da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG, PB), como requisito parcial para a obtenção grau de **Mestre em Engenharia Química**.

**Orientadores: Prof^a. Dr^a. Odelsia Leonor Sanchez de Alsina
Dr. Osvaldo Soares da Silva**

Campina Grande, PB, Brasil

2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

A663e

2009 Araújo, Shirley Waleska Cavalcante.

Estudo da dissolução *in vitro* de grânulos do extrato de quebra-pedra (*Phyllanthus Niruni L.*) recobertos em leito de jorro / Shirley Waleska Cavalcante Araújo. — Campina Grande, 2009.

64 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia.

Referências.

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Odelsia Leonor Sanchez de Alsina, Dr. Osvaldo Soares da Silva.

1. Dissolução *in vitro*. 2. Quebra-Pedra. 3. Revestimento Gastro-resistente. I. Título.

CDU – 66.021.3(043)

**ESTUDO DA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DE GRÂNULOS DO EXTRATO DE
QUEBRA-PEDRA (*PHYLLANTHUS NIRUNI L.*) RECOBERTOS EM LEITO DE
JORRO**

Dissertação de Mestrado aprovada em 31 de Março de 2009, pela banca
examinadora constituída pelos professores:

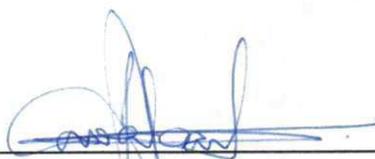
BANCA EXAMINADORA



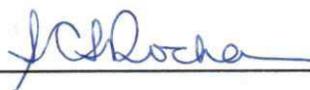
Prof.^a Dr.^a Odelsia Leonor Sanchez de Alsina
(Orientadora - UAEQ/ UFCG)



Dr. Osvaldo Soares da Silva
(Orientador - UAEQ/ UFCG)



Prof.^a Dr.^a Josilene de Assis Cavalcante
(Examinador externo - CCTA/ UFCG)



Prof.^a Dr.^a Sandra Cristina dos Santos Rocha
(Examinador externo - FEQ/ Unicamp)

Dedico a Deus, o meu criador e Senhor da minha vida. A Ele toda honra e glória. Todas as coisas foram feitas por intermédio Dele, e, sem Ele, nada do que foi feito se fez (Jo 1.3).

Dedico ao meu amado esposo, Joacil, pois demonstrou seu companheirismo, compreensão e muita paciência. Obrigada por fazer parte de minha vida, amo você! Ainda que eu conheça todos os mistérios e toda a ciência, se não tiver amor, nada serei (1Co 13.2).

Dedico aos meus pais, Silvia e José, e às minhas irmãs, Silvana e Sandra, que sempre me deram incentivo e apoio em meus estudos, e me ensinaram a importância do aprendizado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a prof^a. Dra. Odelsia Leonor Sanchez de Alsina, por todo apoio, compreensão e dedicação na orientação deste trabalho. Muito obrigada também por sua amizade.

Ao Dr. Osvaldo Soares da Silva pela sua orientação e participação imprescindíveis.

Aos membros da banca examinadora, pela contribuição nas correções deste trabalho.

Aos professores Flávio, Líbia, Gilmar, Ana Paula e Renato, pois contribuíram muito com suas sugestões.

A Julyanna, aluna de iniciação científica, pela amizade e colaboração na parte experimental.

A minha amiga Georgiana pelos momentos de ajuda tanto no laboratório quanto em minha vida pessoal.

Ao Sr. José Lopes e Sr. Nogueira pela grande ajuda que me deram em muitos momentos.

A CAPES, pelo auxílio financeiro.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

NOMENCLATURA	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE TABELAS	x
RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO 2: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 Fitoterápicos	4
2.2 Quebra - pedra (<i>Phyllanthus niruni L.</i>)	5
2.3 Compostos Fenólicos	7
2.3.1 Métodos Analíticos	7
2.4 Granulados	9
2.4.1 Granulação por via seca	10
2.4.2 Granulação por via úmida	11
2.5 Recobrimento	12
2.5.1 Tipos de Recobrimento	12
2.5.2 Revestimento gastro-resistente	14
2.6 Leito de Jorro	14
2.7 Dissolução	16
2.7.1 Modelos utilizados em cinéticas de dissolução	18
2.7.2 Alguns fatores que influenciam os ensaios de dissolução	19
2.7.3 Sistemas utilizados em testes de dissolução	20
2.7.4 Métodos para ensaios de dissolução	23
CAPÍTULO 3: MATERIAIS E MÉTODOS	25
3.1 Materiais Utilizados	25
3.1.1 Extrato de Quebra-pedra	25
3.1.2 Conjunto de peneiras	26
3.1.3 Leito de Jorro	26
3.1.4 Grânulos do extrato de Quebra-pedra recobertos	26
3.1.5 Câmara incubadora com agitação orbital (Shaker)	27
3.1.6 Espectrofotômetro	27

3.2 Metodologias	
3.2.1 Granulação por via úmida	27
3.2.2 Testes de resistência	29
3.2.3 Testes de dissolução <i>in vitro</i>	30
3.3. Quantificação dos princípios ativos	31
3.3.1 Quantificação de flavonóides	31
3.3.2 Quantificação de fenóis totais	33
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÕES	34
4.1 Granulação	34
4.1.1 Distribuição granulométrica	34
4.1.2 Análise estatística do estudo da granulação	37
4.1.2.1 Efeito da curvatura	40
4.2 Cinética de dissolução dos flavonóides	42
4.2.1 Análise estatística da cinética de dissolução dos flavonóides	47
4.3 Cinética de dissolução dos fenóis totais	49
4.4. Modelagem da cinética de dissolução dos princípios ativos	52
5. CONCLUSÕES	57
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59
ANEXO	63

NOMENCLATURA

d_i	Diâmetro médio inicial dos grânulos	mm
d_f	Diâmetro médio final dos grânulos	mm
IQ	Índice de quebra	
k	Constante cinética do modelo de primeira ordem	min^{-1}
m_d	Massa dissolvida do princípio ativo	mg
m_t	Massa total de princípio ativo presente nos grânulos	mg
t	Tempo	min
T	Temperatura do ar de secagem	$^{\circ}\text{C}$
V	Volume de etanol	mL
W	Vazão da suspensão de recobrimento	g/min
δ	Crescimento da partícula	%
η	Eficiência da dissolução	%

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1	Quebra – Pedra (<i>Phyllanthus niruni L.</i>)	6
FIGURA 2.2	Esquema geral da granulação	10
FIGURA 2.3	Preparação dos grânulos	11
FIGURA 2.4	Recobrimento por filme	13
FIGURA 2.5	Esquema de um leito de jorro convencional	15
FIGURA 2.6	Aparelho com pá agitadora	20
FIGURA 2.7	Aparelho com cesto de rede	21
FIGURA 2.8	Esquema do aparelho de fluxo contínuo	22
FIGURA 2.9	Aparelho dos cilindros oscilantes	22
FIGURA 3.1	Extrato seco de quebra-pedra em pó	25
FIGURA 3.2	Grânulo sem (a) e com (b) recobrimento	27
FIGURA 4.1	Fração de grânulos retidos nas peneiras em função do diâmetro médio de grânulos: a (7 mL; 12 min); b(11 mL; 12 min); c (7 mL; 6min); d (11mL; 6 min); e (9 mL; 9 min); f (9 mL; 9 min)	35
FIGURA 4.2	Diagrama de Pareto (diâmetro médio inicial)	38
FIGURA 4.3	Diagrama de Pareto (diâmetro médio final)	38
FIGURA 4.4	Diagrama de Pareto (índice de quebra)	39
FIGURA 4.5	Resíduos em função dos valores observados: diâmetro inicial (a), diâmetro final (b) e índice de quebra (c)	40
FIGURA 4.6	Diagrama de Pareto com efeito da curvatura: diâmetro inicial (a), diâmetro final (b) e índice de quebra (c)	41
FIGURA 4.7	Perfil de dissolução dos flavonóides para os grânulos não recobertos.	42
FIGURA 4.8	Perfis de dissolução dos flavonóides	43
FIGURA 4.9	Perfil de dissolução (ponto central)	44

FIGURA 4.10	Comparação dos perfis de dissolução	47
FIGURA 4.11	Diagrama de Pareto do efeito das variáveis independentes sobre a eficiência de dissolução	48
FIGURA 4.12	Resíduos em função dos valores observados para a eficiência de dissolução	49
FIGURA 4.13	Diagrama de Pareto com efeito da curvatura para a eficiência de dissolução	49
FIGURA 4.14	Perfil de dissolução dos fenóis totais para os grânulos não recobertos	50
FIGURA 4.15	Perfis de dissolução dos fenóis totais	50
FIGURA 4.16	Ajuste ao modelo cinético de primeira ordem para a dissolução dos flavonóides	53
FIGURA 4.17	Ajuste ao modelo cinético de primeira ordem para a dissolução dos fenóis totais.	55

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2.1	Modelos dependentes aplicados em cinéticas de dissolução	18
TABELA 2.2	Critério geral de aceitação da etapa ácida das formas farmacêuticas com revestimento entérico	24
TABELA 2.3	Critério geral de aceitação da <i>etapa básica</i> (tampão fosfato sódico tribásico pH 6,8) das formas farmacêuticas com revestimento entérico.	24
TABELA 3.1	Valores das variáveis usadas no processo de granulação	28
TABELA 3.2	Valores das variáveis de recobrimento dos grânulos	30
TABELA 4.1	Valores dos diâmetros médios e índice de quebra dos grânulos	36
TABELA 4.2	Eficiência da dissolução de flavonóides aos 165 min	45
TABELA 4.3	Relação entre crescimento da partícula e eficiência da dissolução	52
TABELA 4.4	Modelagem da cinética de dissolução dos flavonóides	54
TABELA 4.5	Modelagem da cinética de dissolução dos fenóis totais	56

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo principal estudar a dissolução *in vitro* de grânulos do extrato fitoterápico de quebra-pedra recobertos em leito de jorro com revestimento polimérico gastro - resistente à base de Eudragit[®]. O revestimento gastro - resistente é uma técnica usada na preparação de formas farmacêuticas para que resistam, sem alteração, à ação do suco gástrico, devendo, porém, desagregar-se rapidamente no suco intestinal. Foi estudado o efeito das condições operacionais do recobrimento dos grânulos (vazão da suspensão de recobrimento e temperatura do ar de secagem) sobre a eficiência da dissolução dos princípios ativos: flavonóides e fenóis totais. Os ensaios de dissolução foram realizados em uma câmara incubadora com agitação orbital e temperatura controlada, como forma alternativa e adaptada de um dissolutor convencional. Os experimentos foram realizados em duas etapas: a etapa ácida, representando o meio gástrico, e a etapa alcalina, representando o meio entérico. Os perfis de dissolução obtidos indicaram gastro – resistência do filme em relação aos flavonóides, uma vez que este princípio ativo só foi liberado em meio alcalino. Já os fenóis totais foram liberados durante a etapa ácida e o filme apresentou uma gastro – resistência parcial. Neste trabalho também foram realizados estudos de granulação por via úmida do extrato seco de quebra-pedra, tendo como variáveis operacionais o volume de etanol utilizado na formulação e o tempo de granulação. O efeito dessas variáveis foi avaliado sobre a resistência mecânica dos grânulos. O equipamento utilizado na obtenção dos grânulos foi um conjunto de peneiras adaptadas a um sistema de vibração, e os testes de resistência mecânica foram feitos em leito de jorro convencional. Os resultados quanto ao processo de granulação indicaram que um maior volume de etanol produziu grânulos com menor resistência. Contudo, a análise estatística realizada nos estudos de dissolução *in vitro* e de granulação mostrou a necessidade de ampliação da matriz experimental com a introdução de pontos axiais, visando avaliar com maior precisão o efeito das variáveis independentes sobre as dependentes.

Palavras – chave: extrato de quebra-pedra, dissolução *in vitro*, gastro – resistência, granulação por via úmida, resistência mecânica.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the *in vitro* dissolution process of breaker stone (*Phyllanthus niruri L.*) phitotherapic extract coated with a polymeric suspension of Eudragit L-30D-55[®] by spouted bed. Methacrylic acid-methylmetacrylate copolymer, also known as Eudragit, have been used as a pH sensitive coating material to protect drug substances prior to delivery to the human intestines. Gastric-resistant coating is a technique used in the pharmaceutical industry as coating of solid dosage forms. Granules remained intact in acid during the dissolution in the acid stage, without changing the color and structure. As soon as the pH of the dissolution environment was changed (buffer stage), the granules disintegrated completely. The operational conditions studied in this work were coating suspension flow rate and drying air temperature over active ingredients efficiency: flavonoids content and total phenol. The dissolutions studies of the coated granules were performed in a dissolution test in a shaker (incubater chamber) at 100 rpm rotational speed and 37°C as alternative form at conventional dissolutor. The experimental runs were carried out in two stages: acid stage indicating the gastric medium and buffer stage meaning enteric medium. The release profiles indicated gastric-resistant with regard to flavonoids content and partial release total phenol content. The breaker stone granules were prepared by wet granulation technology using breaker stone dry extract and polivinilpirrolidone K-30 as a binder. The operational variables to wet granulation process were ethanol volume and granulation time. The effect of variables was analyzed about granules mechanic resistance. The granules were obtained by sieving agitation. The mechanic resistance tests were performed in conventional spouted bed. The results according to granulation process pointed out that increasing ethanol volume producing granules grater resistant. Nevertheless, the statistical analysis pointed out in both dissolution and granulation tests there is a necessity to enlarge of experimental design to axial points, in order to evaluate of an accurate form of the effect of independent process variable over response variables.

Keywords: breaker stone extract, *in vitro* dissolution, gastric-resitance, wet granulation, mechanic resistance.

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

O uso das plantas medicinais no tratamento das doenças tem sido registrado no decorrer da história nas mais diversas civilizações. No passado este conhecimento empírico era justificável, pois o homem não tinha outra forma de conhecer os vegetais senão pela “tentativa e erro”. Estima-se que atualmente cerca de 80% da população mundial faça uso de plantas ou preparações destas no tratamento de doenças. Nas últimas décadas, trabalhos científicos em diversos países têm provado a eficácia de diversas plantas medicinais usadas tradicionalmente pela população.

O Brasil possui grande potencial para o desenvolvimento da terapêutica com uso de plantas medicinais, considerando que possui uma flora muito rica e diversificada. Estima-se que menos de 10% das 500 mil espécies de plantas do planeta Terra (16% concentrando-se na região Amazônica Brasileira) foram estudadas cientificamente. A flora brasileira representa, portanto, um manancial de novas drogas, o que abre uma possibilidade para o Brasil obter a liderança no mercado de fitoterápicos (MEIRA, 2007).

A fitoterapia é uma terapia milenar que utiliza as plantas para o tratamento de doenças. Sua aplicação tem se tornado cada vez mais popular entre os povos de todo o mundo. Com o reconhecimento da Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1978, o interesse pelas potencialidades dos produtos vegetais com ação farmacológica vem crescendo, aumentando conseqüentemente a produção dos fitoterápicos na indústria farmacêutica.

No campo da indústria farmacêutica de fitoterápicos, o material obtido a partir da secagem do extrato líquido é um produto intermediário que encontra aplicação na preparação de muitas formas farmacêuticas, tais como: comprimidos, cápsulas, granulados, pomadas, entre outras. O recobrimento polimérico do extrato fitoterápico seco pode melhorar o aspecto visual do produto, agregando valores comerciais e protegendo-o de condições ambientais desfavoráveis (CORAL, 2004). Outra

reconhecida vantagem do recobrimento é a possibilidade de liberação controlada do princípio ativo, facilitando a absorção entérica e protegendo a mucosa do trato digestivo.

Segundo Nitz (2006), a funcionalidade da operação de recobrimento na indústria farmacêutica está geralmente associada ao perfil de liberação do composto ativo do medicamento. Portanto, é indispensável que estudos que tratam de desenvolvimento de produtos recobertos e processos de recobrimento venham acompanhados de avaliações do perfil de dissolução do fármaco. Os estudos de dissolução dos princípios ativos são importantes do ponto de vista fisiológico no sentido de proteger o trato gastrointestinal em relação à administração do medicamento.

Dentre os vários tipos de processos existentes atualmente para se realizar operações de revestimento em partículas, o processo no leito de jorro tem se demonstrado promissor devido à facilidade de operação, controle e qualidade do produto obtido. Esse processo tem sido amplamente empregado para a aplicação de revestimento em produtos químicos, agrícolas e farmacêuticos, tais como sementes de brócolos (ALMEIDA e ROCHA, 2008), uréia (DONIDA, 2000), comprimidos e uréia (AYUB, 1997), entre outros. Em particular, tem sido atribuída a esse processo a vantagem de formação de camada altamente uniforme em curto tempo de processamento, devido, principalmente, às excelentes condições de transferência de calor e de massa no interior do equipamento (MARTINS e OLIVEIRA, 2003).

Devido à importância do tema em questão e da necessidade de fundamentação e desenvolvimento do processo de recobrimento de extratos fitoterápicos em leitos fluidodinamicamente ativos e seus efeitos sobre a cinética de dissolução gástrica e entérica, este trabalho tem como objetivos:

Objetivo Geral

Estudar a influência do recobrimento dos grânulos do extrato de Quebra-pedra sobre a dissolução *in vitro* dos seus princípios ativos.

Objetivos Específicos

- Estudar o processo de granulação por via úmida do extrato seco de quebra-pedra e avaliar a influência das variáveis independentes, volume de etanol e tempo de granulação, sobre a resistência mecânica dos grânulos, visando otimizar futuros processos de recobrimento em relação a grânulos mais resistentes e com formas mais regulares;
- Realizar testes de dissolução *in vitro* com grânulos do extrato de quebra-pedra recobertos em diversas condições de temperatura de secagem e vazão da suspensão de recobrimento em leito de jorro, avaliando a influência dessas variáveis sobre a eficiência de dissolução dos princípios ativos;
- Verificar o efeito do tempo de armazenamento dos grânulos recobertos sobre a cinética de dissolução dos princípios ativos;
- Obter as melhores condições de granulação por via úmida e de dissolução *in vitro* relacionadas às variáveis independentes estudadas.

CAPÍTULO 2

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Fitoterápicos

O crescimento do mercado mundial de fitoterápicos é estimado em 10 a 20% ao ano e as principais razões que impulsionaram esse grande crescimento nas últimas décadas foram: a valorização de uma vida de hábitos mais saudáveis e, conseqüentemente, o consumo de produtos naturais; os evidentes efeitos colaterais dos medicamentos sintéticos; a descoberta de novos princípios ativos nas plantas; a comprovação científica de fitoterápicos; e o preço que, de maneira geral, é mais acessível à população com menor poder aquisitivo (BIESKI, 2006).

A fitoterapia é o tratamento e/ou a prevenção de doenças usando plantas, partes de plantas e preparações feitas com plantas. Por isso, a ação de um produto fitoterápico é baseada na presença de princípios ativos de origem vegetal.

Os princípios ativos são componentes químicos que conferem às plantas medicinais uma atividade terapêutica. Distribuem-se pelos diferentes órgãos das plantas de forma desigual, em função da especialização das células. Planta medicinal é definida como aquela planta que contém um ou mais princípios ativos.

Os medicamentos fitoterápicos são preparações padronizadas contendo extratos de plantas, amplamente comercializados em países desenvolvidos e em desenvolvimento. De acordo com a definição proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS), os medicamentos fitoterápicos são aqueles preparados com substâncias ativas presentes na planta como um todo, ou em parte dela, na forma de extrato total.

De acordo com Toledo et al. (2003), o estímulo ao uso de fitoterápicos tem como objetivo: prevenir, curar ou minimizar os sintomas das doenças, com um custo

mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, comparativamente àqueles obtidos por síntese química, que são, em geral, mais caros, devido às patentes tecnológicas envolvidas.

Os extratos vegetais podem apresentar-se líquidos, moles, espessos ou secos. Os aquosos devem ser preparados para uso imediato, em virtude de sua suscetibilidade de degradação e de contaminação microbiana, inerente à presença de água como solvente. Os extratos secos são preparações obtidas pela eliminação de aproximadamente 96,5% – 99% da fase líquida, por meio de operação de secagem em pressão atmosférica ou reduzida, por liofilização ou, ainda, pela incorporação de solução extrativa em matriz sólida, com posterior secagem (TOLEDO et al., 2003).

2.2 Quebra - pedra (*Phyllanthus niruni* L.)

Ocorrem no mundo mais de 500 espécies de *Phyllanthus*. É uma espécie nativa no Continente Americano, ocorrendo desde os Estados Unidos até a Argentina. Também é encontrada no Continente Europeu. No Brasil está presente em quase todo o território e são muitas as espécies, entre as quais plantas arbóreas e arbustivas, bem como plantas herbáceas, muitas com características de infestantes de lavouras. O nome *Phyllanthus* vem do grego "phyllon" (folha) e "anthos" (flor). Como outras espécies de *Phyllanthus*, inclusive *Phyllanthus tenellus* que é uma planta nativa no Brasil, *Phyllanthus niruni* é tida como medicinal.

A quebra-pedra (*Phyllanthus niruni* L.), Figura 2.1, é uma planta ereta, de porte delicado, atingindo cerca de 80 cm de altura, quando bem desenvolvida, embora seja mais comum encontrá-la com a metade deste tamanho. As folhas são compostas por folíolos ovalados, de cor verde-claros um tanto acinzentados na superfície dorsal (face inferior). As flores minúsculas, de cor amarelo-esverdeado, aparecem entre os folíolos e quase não são perceptíveis. Produzem frutos arredondados, verdes na aparência, bem pequeninos, que conferem à planta um aspecto ainda mais delicado. Algumas plantas pertencentes a outros gêneros e

famílias recebem também o nome popular de quebra-pedra, mas não tiveram suas propriedades terapêuticas confirmadas. Em alguns casos receberam este nome apenas por serem parecidas com esta espécie. A quebra-pedra é uma planta espontânea que prefere os locais úmidos e de meia-sombra, onde consegue alcançar os maiores desenvolvimentos. Para fins fitoterápicos faz-se uso de toda a planta: raízes, caule e folhas.



Figura 2.1- Quebra – Pedra (*Phyllanthus niruri* L.).

A quebra-pedra é uma espécie vegetal largamente utilizada pela medicina tradicional com comprovadas atividades farmacológicas. A principal indicação terapêutica é contra litíase renal, sendo os polifenóis, presentes na sua constituição química, os possíveis responsáveis por essa atividade (SOUZA et al., 2005). Em seu extrato encontram-se também compostos químicos como: alcalóides, esteróides, terpenos, cumarinas e compostos fenólicos, como taninos e flavonóides.

Segundo Faria et al. (2004), o interesse pela determinação dos constituintes ativos e das atividades farmacológicas do gênero *Phyllanthus* iniciou-se na década de 60. Diversos constituintes químicos como triterpenóides, lignanas, vitaminas, flavonóides, alcalóides, taninos, esteróides, compostos fenólicos e ácidos graxos insaturados foram encontrados neste gênero.

2.3 Compostos fenólicos

De acordo com Lago et al. (2007), as análises de matérias-primas de origem vegetal ou de medicamentos à base de plantas (fitoterápicos) envolvem atividades complexas, visto que uma planta possui um fitocomplexo constituído de diversas substâncias ativas e outras secundárias (inertes), que podem interferir na análise dos princípios ativos.

Os compostos fenólicos são estruturas químicas que apresentam hidroxilas e anéis aromáticos, nas formas simples ou de polímeros, que os confere o poder antioxidante. Esses compostos podem ser naturais ou sintéticos. Quando presentes em vegetais podem estar em formas livres ou complexadas a açúcares e proteínas (ANGELO e JORGE, 2007). A diversidade estrutural dos compostos fenólicos deve-se à grande variedade de combinações que acontece na natureza e os compostos resultantes são chamados de polifenóis. A análise de compostos fenólicos é influenciada pela natureza do composto, o método de extração empregado, o tamanho da amostra, o tempo e as condições de estocagem, o padrão utilizado, etc.

Os compostos fenólicos de plantas enquadram-se em diversas categorias, como fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados de ácidos benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonóides, estilbenos, taninos condensados e hidrolisáveis, lignanas e ligninas (SOUSA et al., 2007).

2.3.1 Métodos analíticos

O método de Folin-Denis é o mais utilizado para a determinação de fenólicos totais em vegetais (ANGELO e JORGE, 2007). Este método baseia-se na redução do ácido fosfomolibdico-fosfotúngstico pelas hidroxilas fenólicas, produzindo um complexo de coloração azul que absorve entre 620 e 740 nm com um comprimento de onda máximo em 725 nm. A reação ocorre em meio alcalino e a solução saturada de carbonato de sódio é a base mais indicada. O método de Folin-Denis, no entanto, não é um método específico, pois determina todos os fenólicos presentes, além de

substâncias redutoras que podem interferir nos resultados. Um aspecto importante a ser considerado neste método é a escolha do padrão. Os mais utilizados têm sido o ácido tânico e a catequina, entretanto, estes compostos apresentam reatividades diferentes frente ao reagente de Folin-Denis.

Muitas vezes o reagente de Folin-Denis é substituído pelo de Folin-Ciocalteu. Este último é mais sensível à redução pelos fenóis e diminui a tendência à precipitação. O reagente consiste de mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotungstístico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6+. Porém, em presença de certos agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul, nos quais a média do estado de oxidação dos metais está entre 5 e 6 e cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras, que não necessariamente precisam ter natureza fenólica (SOUSA et al., 2007).

O método Azul da Prússia é recomendado para análise geral de fenóis, porque é menos susceptível à interferência de proteína que o método Folin-Denis (MAGALHÃES, et al., 2008). A base química dessa metodologia é a redução pelos grupos hidroxifenólicos de íons Fe^{+3} a Fe^{+2} , os quais são complexos com ferrocianeto, para produzir pigmentos de coloração azul. Os métodos em que ocorre a formação de complexos entre íons metálicos e grupos fenólicos (Azul da Prússia) são mais específicos que os métodos de oxi-redução (Folin-Denis).

Segundo Marcucci et al. (2005), o cloreto de alumínio ($AlCl_3$) é bastante utilizado na determinação de flavonóides totais em plantas, através de métodos espectrofotométricos. O cátion alumínio forma complexos estáveis com os flavonóides em metanol, ocorrendo na análise espectrofotométrica um desvio para maiores comprimentos de onda e uma intensificação da absorção. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonóides, evitando-se a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, que invariavelmente acompanham os flavonóides nos tecidos vegetais. A leitura é feita em espectrofotômetro a 425 nm, utilizando-se cloreto de alumínio a 2% em metanol. Nessas condições, o complexo flavonóide-Al absorve em comprimento de onda bem maior do que o flavonóide sem a presença do agente complexante. Os ácidos

fenólicos, mesmo os que formam complexos com $AlCl_3$, absorvem em comprimentos de onda muito inferiores, evitando-se dessa maneira interferências nas medidas de absorbância.

2.4 Granulados

Segundo Bernardes (2006), a granulação é o processo pelo qual partículas de pó muito finas se aderem entre si para a formação de uma partícula maior, que na realidade são multi-partículas denominadas de grânulos. Dependendo da aplicação desejada, esses grânulos podem se situar em tamanhos que variam de 0,2 mm até 20 mm ou mais. Esse processo é muito utilizado nas indústrias de fertilizantes, farmacêuticas, alimentícias, químicas, siderúrgicas, mineração e produtos cerâmicos.

A granulação de pós ou mistura de pós apresenta as seguintes vantagens: (BERNARDES, 2006):

- Prevenir segregação dos componentes da mistura: a segregação pode ocorrer devido a diferenças nos tamanhos de partículas ou densidades de componentes da mistura. Geralmente, partículas menores e/ou mais densas se concentram na base de um recipiente, sendo que as partículas maiores e/ou com menor densidade se concentram no topo desse mesmo recipiente.
- Melhorar propriedades de fluidez da mistura dos pós: muitos pós, devido a seu tamanho pequeno, forma irregular ou características de superfície, são muito aderentes (coesivos) e não permitem uma boa fluidez.
- Melhorar as características de compactação da mistura dos pós: alguns pós, ou misturas de pós, são difíceis de compactar, mesmo quando um bom aditivo (adesivo ou ligante) é incluído na mistura. Porém, grânulos desses pós ou misturas de pós são, freqüentemente, mais facilmente compactados e produzem peças mais resistentes.

O granulado ideal deve apresentar forma e cor as mais regulares possíveis, estreito grau de distribuição granulométrica, menos que 10% de partículas primárias livres ou aglomerados de baixa granulometria, boa fluidez, suficiente resistência mecânica e solubilidade em água ou fluidos biológicos. Estas características, assim como a forma e textura da superfície e a porosidade, são influenciadas pelos constituintes da formulação e pelas metodologias e equipamentos empregados.

As metodologias de granulação podem ser classificadas quanto aos passos tecnológicos ou quanto ao agente de aglutinação (COUTO et al., 2000). No primeiro caso, considera-se a formação ou não de um produto intermediário agregado. A granulação por desagregação conduz a obtenção de uma massa que será dividida em granulados, enquanto a granulação por agregação leva a formação do granulado diretamente a partir da mistura de pós, conforme a Figura 2.2.

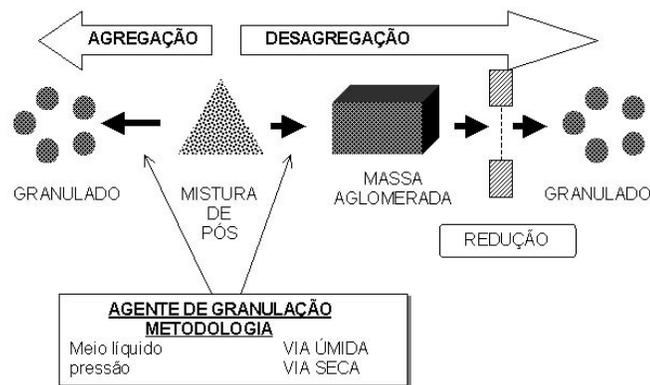


Figura 2.2 – Esquema geral da granulação.
Fonte: PETROVICK (2000).

2.4.1 Granulação por via seca

Segundo Lira (2004), a granulação por via seca é um método também conhecido como dupla compressão ou compactação por rolos, onde o grânulo não é formado pela adição de líquido, mas por compactação prévia dos pós, sem lubrificantes, em partículas de tamanho grande e sem preocupação alguma com regularidade de tamanho ou peso. Esses compactados são a seguir quebrados e

tamizados a fim de obter pequenos grânulos coesivos e de mesma granulometria. A granulação por via seca tem aplicação freqüente na indústria farmacêutica.

2.4.2 Granulação por via úmida

Na granulação por via úmida convencional, o líquido de umedecimento, mais usualmente a água ou outros solventes orgânicos voláteis, isolados ou contendo substâncias aglutinantes, são adicionados à mistura pulveréa em misturadores ou malaxadores, devendo promover dissolução apenas parcial de um ou mais constituintes da mistura de pós. A substância aglutinante pode ser adicionada à mistura de pós a seco ou dispersa num solvente (COUTO et al., 2000). Atualmente, preferem-se polímeros como PVP como aglutinantes para granulação por via úmida. Quando hidratados, estes aglutinantes produzem soluções viscosas e adesivas. A adesividade agrupa os grânulos individuais. A preparação dos grânulos por via úmida envolve as etapas de mistura e umedecimento dos pós (Figura 2.3), granulação da massa, secagem e calibração do granulado.

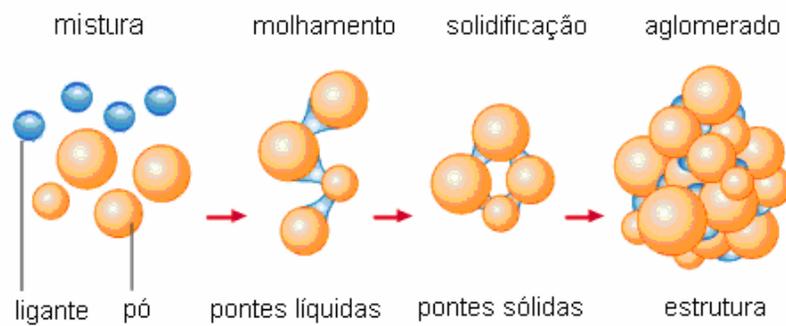


Figura 2.3 – Preparação dos grânulos

Fonte: ROCHA (2006)

2.5 Recobrimento

O recobrimento de materiais granulares é uma operação bastante utilizada pela indústria Farmacêutica com diversas finalidades, que vão desde fatores estéticos ao controle da taxa de dissolução de substâncias químicas, e incluem: facilitar a administração através da obtenção de uma superfície lisa; identificar o medicamento pelo emprego de cores; proteger a droga de agentes atmosféricos como, luz, oxigênio, entre outros (CUNHA, 2004).

Borini (2007) cita algumas vantagens do processo de revestimento de partículas, como:

- melhorar a aparência, o sabor e o odor da forma farmacêutica;
- a possibilidade de modificar a velocidade de dissolução do fármaco e, portanto, sua velocidade de liberação;
- melhorar a estabilidade química do princípio ativo;
- proteger o núcleo de agentes que irão causar degradação química do fármaco, como umidade, oxigênio e luz ultravioleta.

2.5.1 Tipos de recobrimento

Existem três principais tipos de recobrimento e podem ser classificados da seguinte forma: com suspensões aquosas à base de açúcar, por cristalização de materiais fundidos e por filme.

O revestimento por açúcar é considerado o tipo mais antigo de revestimento de comprimidos e envolve a deposição, a partir de soluções aquosas, de revestimentos baseados predominantemente de sacarose como matéria-prima (REMINGTON, 2004). Este processo apresenta alguns problemas como o aumento excessivo no peso da partícula recoberta, tempo prolongado de processamento, entre outros.

No recobrimento por solidificação de material fundido o agente de revestimento é aplicado em seu estado liquefeito e se solidifica na superfície do substrato, formando a cobertura desejada, eliminando o uso de solventes (BORINI, 2007; AYUB, 1997). Ao contrário dos outros processos, não é fornecido calor ao sistema, e sim, retirado calor para que o material fundido se solidifique sobre a partícula.

De acordo com Almeida e Rocha (2008), o recobrimento tipo filme é caracterizado pela formação de uma película que atribui pequeno aumento de massa à partícula, entre 1 e 10%, e praticamente não modifica a sua forma e seu tamanho. As principais vantagens do recobrimento por filme são: a utilização de um solvente líquido, a pequena variação de massa e forma das partículas, a versatilidade na formulação do recobrimento e a boa resistência da película protetora. Na Figura 2.4 observa-se, esquematicamente, como ocorre o revestimento por filme.

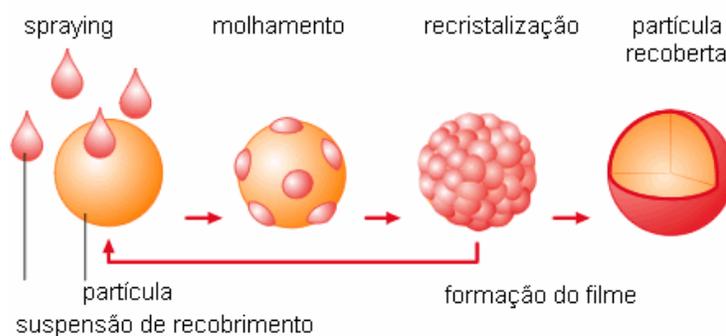


Figura 2.4 – Recobrimento por filme.

Segundo Ferreira (2006), os filmes de revestimento com Eudragit® têm demonstrado serem estáveis na presença de umidade. Filmes de Eudragit® L e L30D não apresentaram hidrólise em um período de 90 dias em temperatura ambiente com 100% de umidade relativa no ar. De fato, os polimetacrilatos (Eudragit®) têm demonstrado grande estabilidade química.

2.5.2 Revestimento gastro - resistente

Segundo Nitz (2006), a funcionalidade da operação de recobrimento na indústria farmacêutica está geralmente associada ao perfil de liberação do composto ativo do medicamento. O filme ou película que recobre os grânulos funcionam como uma barreira ao transporte de massa, proporcionando certa característica de dissolução da droga. Em alguns casos deseja-se obter produtos em que a liberação seja imediata. Em outros, produtos com uma liberação prolongada e pH-independente, e existem os casos em que se deseja atribuir gastro-resistência à dosagem, de modo que a absorção ocorra apenas no intestino. É indispensável que estudos que tratam de desenvolvimento de produtos recobertos e processos de recobrimento venham acompanhados de avaliações do perfil de dissolução do fármaco.

O revestimento gastro-resistente é uma técnica usada na preparação de formas farmacêuticas para que resistam, sem alteração, à ação do suco gástrico, devendo, porém, desagregar-se rapidamente no suco intestinal (LACHMAN et al., 2001). O revestimento gastro-resistente de produtos farmacêuticos tem sido amplamente estudado devido ao grande número de drogas que necessitam não sofrerem ação do suco gástrico.

2.6 Leito de jorro

O sistema de leito de jorro foi desenvolvido no Canadá por Mathur e Gishler (1955) quando testavam um leito fluidizado com maior capacidade para a secagem de trigo. Eles observaram que dependendo da vazão de ar de alimentação é possível obter-se diferentes regimes de contato fluido-partícula.

O leito de jorro destaca-se entre as diversas operações unitárias que envolvem partículas sólidas e fluidos. Este equipamento tem por finalidade promover íntimo contato entre um fluido e partículas relativamente grandes ($d_p > 1$ mm) que apresentam fluidização de baixa qualidade. Esta técnica é aplicada com eficiência à

secagem de materiais granulares, frutas, pastas e suspensões, à granulação e ao recobrimento de partículas (MEDEIROS, 2004).

O leito de jorro (Figura 2.5), na forma convencional, consta de uma coluna cilíndrica de base tronco-cônica. O fluido é injetado verticalmente através de um pequeno orifício na parte central da base. A vazão de entrada do leito é alta o suficiente para vencer a queda de pressão formada pelas partículas sólidas, formando um fluxo ascendente de partículas no centro do leito. Depois de atingirem uma determinada altura as partículas encaminham-se para a região anular, num fluxo lento. Estas retornam a região central, onde recomeça o trajeto num movimento cíclico (MATHUR e EPSTEIN, 1974).

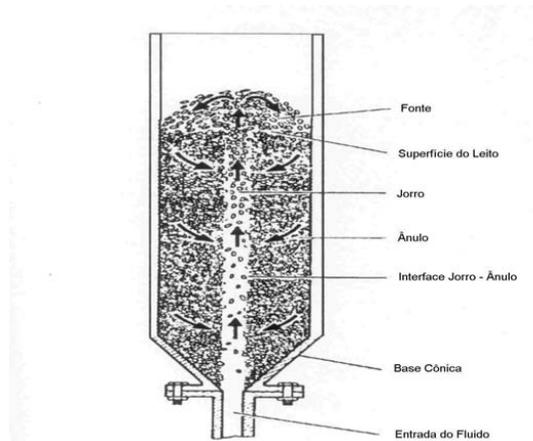


Figura 2.5 – Esquema de um leito de jorro convencional.

O recobrimento de partículas em leito de jorro consiste na injeção de ar aquecido no leito, para estabelecer o sistema fluidodinâmico e secar a suspensão de revestimento atomizada sobre as partículas do leito. A vazão da solução de recobrimento é regulada de tal forma que não interfira na estabilidade do sistema e não provoque aderência excessiva entre as partículas e nas paredes do leito (DONIDA, 2000). Em particular, tem sido atribuída ao processo em leito de jorro a vantagem de formação de camada altamente uniforme em curto tempo de processamento, devido, principalmente, às excelentes condições de transferência de calor e de massa no interior do equipamento.

Rocha (2006) estudou o recobrimento dos grânulos do extrato fitoterápico de Quebra-pedra em leito de jorro, avaliando a influência da pressão de atomização, da temperatura do ar de secagem e da vazão da suspensão de recobrimento sobre a eficiência do processo e o crescimento dos grânulos. A máxima eficiência obtida foi de 93,15%, e a mínima de 40,78%. Em relação ao aspecto qualitativo foi verificado um recobrimento uniforme dos grânulos, sem fissuras aparentes.

Borini (2007) estudou o revestimento de comprimidos em leito de jorro, seguido de testes de dissolução, avaliando a influência da pressão do ar de atomização, vazão de atomização e altura do bico atomizador sobre as propriedades físicas e farmacotécnicas das partículas revestidas. Em relação aos testes de dissolução, os comprimidos revestidos apresentaram um perfil de liberação do paracetamol considerado adequado.

Almeida e Rocha (2008) estudaram a eficiência do processo de recobrimento de sementes de brócolos recobertas com polímero em leito de jorro. Foram investigados os efeitos das seguintes variáveis operacionais: temperatura do ar de jorro, pressão de ar de atomização e vazão de suspensão de recobrimento sobre a eficiência do processo e a germinação das sementes. Os resultados revelaram que houve influência das variáveis operacionais na eficiência do processo e na germinação. Verificou-se, também, que as sementes recobertas apresentaram de 2 a 10% menos de absorção que as sementes não-recobertas. Obtiveram altas eficiências, variando de 61,39 a 80,94%.

2.7 Dissolução

Para obtenção do efeito terapêutico a partir de um medicamento na forma de comprimido, quando administrado por via oral, é necessário que o fármaco passe da forma de dosificação em que se encontra para outra em que seja diretamente absorvível. Este processo, chamado de liberação, é anterior a absorção, e depende da dissolução do fármaco nos líquidos orgânicos (RODRIGUES et al., 2008).

A liberação do fármaco de uma forma farmacêutica sólida pode envolver três etapas fundamentais: desintegração, desagregação e dissolução. Esses processos podem ocorrer simultaneamente, com a conseqüente liberação do fármaco da forma farmacêutica (SERRA e STORPIRTIS, 2007).

A absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral depende da liberação do fármaco da sua forma farmacêutica, da sua dissolução ou solubilização em condições fisiológicas e da sua permeabilidade através das membranas do trato gastrointestinal. Devido à natureza crítica da liberação e da dissolução, o estudo de dissolução *in vitro* pode ser relevante para prever o desempenho *in vivo* (MARTINELLO e SERRA, 2008).

De acordo com Marcolongo (2003), dissolução pode ser definida de forma simplificada como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo.

Segundo Souza et. al. (2007), os estudos de dissolução representam uma ferramenta indispensável para as várias etapas dos processos de desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos, permitindo verificar a estabilidade dessas formulações. Na área de produção farmacêutica e controle de qualidade, os resultados do teste de dissolução podem ser empregados para detectar desvios de fabricação, para assegurar uniformidade durante a produção de um lote e reprodutibilidade lote a lote.

Os experimentos de dissolução são essenciais, pois medem a porcentagem de fármaco dissolvido no meio de dissolução, seja este água ou sucos gástrico e intestinal simulados. O teste consiste na utilização de aparelho que simula as condições do TGI (trato gastrointestinal) em termos de temperatura e agitação para medir a quantidade de fármaco dissolvido no meio em determinado espaço de tempo. Estes experimentos podem medir a taxa de dissolução, coletando-se amostras em tempos variados, ou simplesmente medir a porcentagem em determinado tempo por medição única (LIRA, 2004).

2.7.1 Modelos utilizados em cinéticas de dissolução

Vários métodos têm sido propostos para a avaliação comparativa entre perfis de dissolução. Estes podem ser classificados em: (1) método baseado na análise de variância (ANOVA); (2) método modelo independente; (3) método modelo dependente. Os métodos baseados na análise de variância determinam, através de repetidos ensaios, as fontes de variação (tempo, produto e interação entre tempo *versus* produto). Dentre os métodos designados de modelo independente destacam-se os testes combinados como os fatores f_1 (fator de diferença) e f_2 (fator de similaridade), que comparam diretamente a diferença entre a porcentagem de fármaco dissolvida em uma unidade de tempo para os produtos teste e referência.

Os métodos modelo dependente são baseados em funções matemáticas distintas que, após seleção de uma função adequada, permitem a avaliação dos perfis em relação aos parâmetros derivados dos modelos aplicados. Os exemplos mais comuns encontrados na literatura são: ordem zero, primeira ordem, Hixon-Crowell, Higuchi, entre outros (SERRA e STORPIRTIS, 2007). As equações que descrevem estes modelos podem ser vistas na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Modelos dependentes aplicados em cinéticas de dissolução.

Ordem/modelo	Equação*
Zero ordem	$Q_t = Q_0 - K_0 t$
Primeira ordem	$\ln Q_t = \ln Q_0 - K_1 t$
Higuchi	$Q_t = K_H t^{1/2}$
Hixson-Crowell	$Q_t^{1/3} = Q_0^{1/3} - K_c t$

* Q_t - quantidade de fármaco liberado no tempo t ; Q_0 - quantidade inicial de fármaco em solução; K_0 , K_1 , K_H , K_C , - constantes de liberação de zero ordem, de primeira ordem, de Higuchi e de Hixson-Crowell, respectivamente; t - tempo.

2.7.2 Alguns fatores que influenciam os ensaios de dissolução

As velocidades de dissolução e de liberação *in vitro* podem ser afetadas por diversos fatores. Rosa (2005) cita alguns desses fatores, como:

- Volume do meio de dissolução: o volume do meio não deve ser inferior a 3 vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco. Isto se faz necessário, visto que, um excesso de meio permite que o fármaco se dissolva continuamente;
- Temperatura do meio: deve ser controlada, pois um aumento de temperatura gera uma maior taxa de dissolução, por aumentar a solubilidade da grande maioria dos solutos. A maior parte dos testes de dissolução é conduzida a $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Na prática este parâmetro não é alterado com o intuito de otimizar a correlação *in vivo-in vitro*;
- pH: no trato gastrointestinal o pH varia entre 1,0 e 7,8. Dessa forma, a escolha do pH do meio deve considerar, principalmente, o tipo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica (imediate ou não) e o sítio de absorção do mesmo. Nem sempre o pH que favorece a absorção é aquele em que o fármaco melhor se dissolve;
- A presença de gases dissolvidos no meio, tensão superficial, a evaporação do meio, a vibração externa e a calibração do equipamento;
- Solubilidade e dimensão das partículas;
- Constituintes da forma farmacêutica: diluentes, desagregantes, aglutinantes, granuladores, lubrificantes e componentes do revestimento;
- ensaio de dissolução adotado.

2.7.3 Sistemas utilizados em testes de dissolução

A seguir encontram-se descritos alguns sistemas utilizados em testes de dissolução e que são adotados por quatro das principais farmacopéias (MANADAS et al., 2002):

Sistema com pá agitadora: o aparelho com pá agitadora (Figura 2.6) é constituído por:

- um recipiente cilíndrico de fundo hemisférico, de vidro borossilício ou outro material apropriado, munido de uma tampa, que evita a evaporação e que tem um orifício central destinado à passagem da haste do agitador, e vários outros, que permitem a introdução de um termômetro e dispositivos para coleta de amostras;
- um agitador constituído por uma haste vertical, que na extremidade inferior tem fixada uma pá, cuja forma corresponde a uma porção de círculo delimitada por dois planos paralelos;
- um banho termostaticado, que permite manter a temperatura do líquido de dissolução a $37 \pm 0,5$ °C durante todo o ensaio.

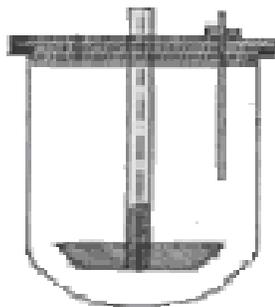


Figura 2.6 – Aparelho com pá agitadora.

Sistema com cesto de rede: o aparelho com cesto de rede (Figura 2.7) é constituído por:

- um recipiente idêntico ao descrito para o aparelho com pá agitadora;
- um agitador de aço inoxidável constituído por uma haste vertical, que na extremidade inferior tem fixado um cesto cilíndrico. Este cesto é formado por duas partes de aço inoxidável. A parte superior consiste em uma placa com um orifício de 2 mm soldada à haste do agitador. A parte inferior, cilíndrica, é constituída por uma rede de aço inoxidável; salvo indicação em contrário, os fios têm 0,254 mm de diâmetro e a abertura das malhas quadradas é de 0,381 mm. Esta parte inferior, que é fixa, destina - se a receber a amostra em ensaio.
- um banho termostatzado, que permite manter a temperatura do meio de dissolução a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante todo o ensaio.



Figura 2.7 – Aparelho com cesto de rede.

Sistema de fluxo contínuo: o aparelho de fluxo contínuo (Figura 2.8) é constituído por:

- um reservatório para o líquido de dissolução;
- uma bomba que faz circular o líquido de dissolução através da célula de fluxo contínuo;
- uma célula de fluxo contínuo de material transparente montada verticalmente e munida de um filtro para a retenção das partículas não dissolvidas;
- um banho termostatzado que permite manter a temperatura de dissolução a $37 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

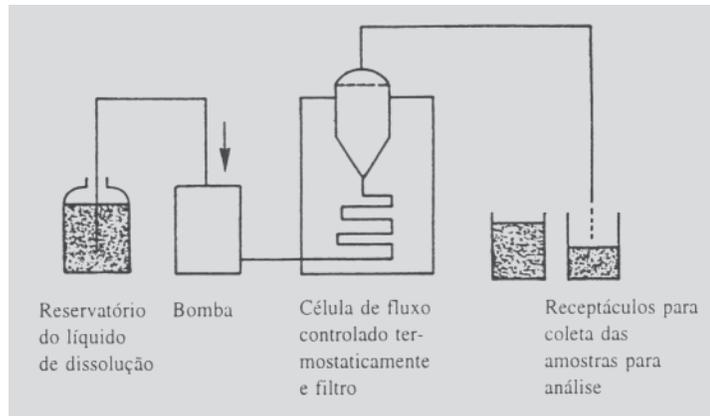


Figura 2.8 – Esquema do aparelho de fluxo contínuo.

Sistema com cilindros oscilantes: este equipamento é constituído por (Figura 2.9):

- uma série de copos de dissolução de vidro de fundo plano;
- uma série de cilindros oscilantes;
- conexões desenhadas de modo a se adaptarem às extremidades superior e inferior dos cilindros oscilantes;
- um motor que permita aos cilindros oscilarem verticalmente dentro dos copos de dissolução e os transfiram horizontalmente de uma série de copos para outra série.

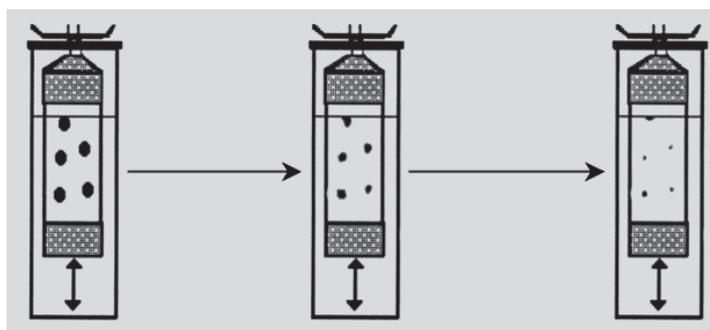


Figura 2.9 – Aparelho dos cilindros oscilantes.

2.7.4 Métodos para ensaios de dissolução

Os métodos a seguir, citados por Ferreira (2006), são descritos pela Farmacopéia americana para comprimidos com revestimento gastro - resistente.

A Farmacopéia americana menciona dois métodos para a avaliação de produtos com revestimento entérico. No método A o produto é testado em uma solução de HCl 0,1 N por 2 horas, denominada etapa ácida, e então é alterado para o pH 6,8 pela adição do tampão com fosfato de sódio tribásico 0,2 M, ajustando, se necessário, o pH com NaOH 2N ou HCl (etapa básica). A etapa básica com tampão é realizada por 45 minutos. O objetivo do teste é verificar se não houve dissolução significativa na etapa ácida, que deverá ser menor que 10% para qualquer amostra.

A porcentagem especificada na monografia do fármaco deverá ser liberada na etapa ligeiramente neutra com tampão pH 6,8. As especificações são estabelecidas nas monografias individuais do medicamento avaliado. No método B o produto é testado em HCl 0,1 N por 2 horas e, então, o meio ácido é drenado e substituído pelo tampão pH 6,8 preparado com a mistura de fosfato de sódio tribásico 0,2M e HCl 0,1N. A temperatura do meio repostado precisa ser pré-equilibrada a 37°C. Os critérios para aceitação são os mesmos do método A. Os critérios de aceitação geral para formas de liberação entérica nas etapas ácida e básica estão relacionados nas Tabelas 2.2 e 2.3:

Tabela 2.2 – Critério geral de aceitação da etapa ácida das formas farmacêuticas com revestimento entérico.

Estágios	Número de unidades testadas	Critérios de aceitação
A1	6	Nenhum valor individual dissolvido excede a 10% do valor rotulado
A2	6	A média de 12 unidades (A1 + A2) dissolvidas não é superior a 10% e nenhum valor individual dissolvido é maior que 25% do teor rotulado
A3	12	A média de 24 unidades (A1 + A2 + A3) dissolvidas não é superior a 10% e nenhum valor individual dissolvido é superior a 25% do teor rotulado.

Fonte: Farmacopéia Americana (USP, 2005).

Tabela 2.3 – Critério geral de aceitação da *etapa básica* (tampão fosfato sódico tribásico pH 6,8) das formas farmacêuticas com revestimento entérico.

Estágios	Número de unidades testadas	Critérios de aceitação
B1	6	Cada unidade apresenta resultados maiores ou iguais que $Q^{(*)} + 5\%$
B2	6	A média de 12 unidades (B1 + B2) é igual ou maior que Q e nenhuma unidade apresenta resultados inferiores a $Q - 15\%$
B3	12	A média de 24 unidades (A1 + A2 + A3) é igual ou maior que Q e não mais que 2 unidades apresentam resultados inferiores a $Q - 15\%$ e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a $Q - 25\%$

Fonte: Farmacopéia Americana (USP, 2005).

Nota: (*) O termo Q corresponde ao teor declarado (rotulado) quando este se encontra dentro dos limites especificados na monografia do produto analisado. O Q é representado como T na Farmacopéia Brasileira.

CAPÍTULO 3

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Transferência em Meios Porosos e Sistemas Particulados da Universidade Federal de Campina Grande (LTMPSP/UFCG).

3.1 Materiais utilizados

3.1.1 Extrato seco de Quebra-pedra

O extrato seco de Quebra-Pedra (*Phyllanthus niruri L.*) foi fornecido pela YOD Comércio de Produtos Naturais LTDA, na forma de um pó fino de coloração castanha (Figura 3.1). Com o extrato foram realizados estudos de granulação por via úmida, testes de resistência com os grânulos obtidos e ensaios de dissolução *in vitro* com grânulos do extrato recobertos em leite de jorro convencional.



Figura 3.1 – Extrato seco de quebra - pedra em pó.

3.1.2 Conjunto de peneiras

No estudo da granulação por via úmida do extrato de quebra-pedra foi utilizado, para a formação dos grânulos, um conjunto de peneiras adaptado a um sistema de vibração. As peneiras apresentavam malhas com aberturas correspondentes aos Tylers 4; 6; 8; 9; 10, cujos diâmetros são, respectivamente, 4,75; 3,35; 2,36; 2,0 e 1,7mm.

3.1.3 Leito de jorro

Os testes de resistência dos grânulos de quebra-pedra, obtidos por via úmida, foram realizados em um leito de jorro convencional, constituído de uma base cônica de acrílico, com ângulo interno de 60⁰, acoplada a uma coluna cilíndrica também em acrílico, com diâmetro interno de 15 cm e 44 cm de altura.

3.1.4 Grânulos do extrato de Quebra-pedra recobertos

Nos ensaios de dissolução *in vitro* foram utilizados grânulos do extrato de quebra-pedra recobertos no leito de jorro convencional descrito no item 3.1.3, por Rocha (2006), com um filme polimérico gastro-resistente à base de Eudragit[®]. A faixa de diâmetro dos grânulos foi de 1,77 a 3,35 mm. Os grânulos permaneceram armazenados por aproximadamente dois anos em recipientes plásticos fechados, contudo, sem proteção da luz natural. Na Figura 3.2 pode ser visto a imagem de um grânulo sem e com recobrimento. É importante ressaltar que esses grânulos foram produzidos por via úmida e de forma manual, por simples prensagem da massa úmida por uma peneira de aço, o que resultou em grânulos de formas irregulares. A forma de granulação manual foi um método alternativo à granuladeira, equipamento muito utilizado nas indústrias farmacêuticas.

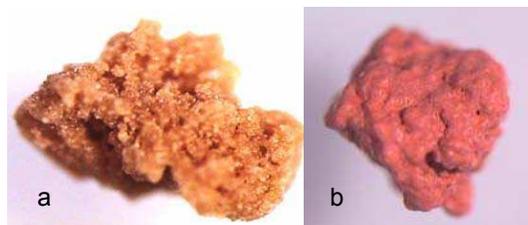


Figura 3.2 – Grânulo sem (a) e com (b) recobrimento.

3.1.5 Câmara incubadora com agitação orbital (Shaker)

Nos ensaios de dissolução *in vitro* foi utilizado um Shaker do tipo MA-420, como forma alternativa e adaptada do aparelho mostrado na Figura 2.6. Este equipamento é aplicável em testes que necessitam de agitação orbital constante e temperatura controlada com variação mínima, possibilitando variações ambientais diversas, especialmente em laboratórios de biologia, microbiologia, biotecnologia, fermentação e desenvolvimento de fungos, aquecimento de plantas *in vitro* e outros.

3.1.6. Espectrofotômetro

O espectrofotômetro UV-Visível da série Libra S11 / S12 foi utilizado para realizar as medidas de absorbâncias relacionadas com as concentrações dos princípios ativos liberados durante o processo de dissolução *in vitro*.

3.2 Metodologias

3.2.1 Granulação por via úmida

O estudo da granulação por via úmida do extrato de Quebra-pedra partiu de um planejamento fatorial de $2^2 + 3$ repetições no ponto central. As variáveis independentes foram: volume de etanol e o tempo de granulação, e as variáveis

dependentes, indicadoras da resistência dos grânulos, foram: diâmetro médio de Sauter após o teste de resistência em leito de jorro, e índice de quebra. Esta etapa foi importante para definir as condições operacionais que formam grânulos mais resistentes e, portanto, mais adequados ao processo de recobrimento em leito de jorro. Na Tabela 3.1 pode ser visto os valores das variáveis estudadas no processo de granulação, baseados em testes preliminares:

Tabela 3.1 – Valores das variáveis usadas no processo de granulação.

Variáveis independentes		
Nível	Volume de etanol (mL)	Tempo de granulação (min)
-1	7	6
0	9	9
+1	11	12

O extrato seco de Quebra-pedra foi granulado utilizando o PVP-K30[®] como aglomerante. Na preparação do material granulado foi utilizado 80% do extrato em pó de quebra-pedra e 20% do aglomerante, sendo 10% deste misturado a uma solução de etanol PA, e os 10% restante misturado ao extrato em pó de quebra-pedra.

A mistura de pós (extrato + PVP) era bem homogeneizada e em seguida adicionava-se lentamente a solução de etanol + PVP-K30[®] até obter a consistência desejada. A mistura foi feita manualmente.

Em seguida, a massa úmida do extrato foi colocada num conjunto de peneiras adaptadas a um sistema vibratório de 50 Hz para formação dos grânulos.

Os grânulos formados foram levados para secagem em uma estufa com circulação de ar operando a 40⁰C durante 24 horas. Após a secagem, os grânulos foram submetidos a testes de resistência mecânica em leito de jorro.

3.2.2 Testes de resistência

Inicialmente, uma carga de 180g de grânulos foi colocada no leito. Os grânulos permaneciam jorrando por 10 min a uma velocidade do ar de 6 m/s e a 60°C, condições estas utilizadas no recobrimento dos grânulos de quebra-pedra em leito de jorro (ROCHA, 2006). Após a retirada dos grânulos pesavam-se os finos retidos no ciclone para avaliar as perdas. Antes e após o teste de resistência fazia-se uma caracterização dos grânulos mediante distribuição granulométrica, através da análise de peneiras com vibração de 20 Hz durante 5 min.

O diâmetro médio de Sauter e o índice de quebra estão definidos através das Equações 3.1 e 3.2, respectivamente:

$$d_m = \left[\sum \left(\frac{w_i}{d_{p_i}} \right) \right]^{-1} \quad (3.1)$$

Onde w_i corresponde à fração mássica contida na peneira i , e d_{p_i} é o diâmetro médio da peneira i .

$$IQ = \frac{d_i - d_f}{d_i} \quad (3.2)$$

Onde d_i e d_f correspondem ao diâmetro médio de Sauter, antes e após o teste de resistência.

3.2.3 Testes de dissolução *in vitro*

Os grânulos utilizados nos testes de dissolução *in vitro* foram recobertos em leite de jorro, por Rocha (2006), em diversas condições de temperatura do ar de secagem e vazão da suspensão de recobrimento, conforme pode ser visto na Tabela 3.2:

Tabela 3.2 – Valores das variáveis de recobrimento dos grânulos.

Variáveis independentes		
Nível	Temperatura do ar (°C)	Vazão da suspensão de recobrimento (g/min)
-1	50	6
0	60	9
+1	70	12

Foram realizados sete ensaios de dissolução *in vitro*, partindo-se de um planejamento fatorial de $2^2 + 3$ repetições no ponto central, tendo como variáveis independentes a temperatura do ar de secagem e a vazão da suspensão de recobrimento. A eficiência da dissolução foi a variável dependente analisada.

Os testes de dissolução *in vitro* basearam-se no método descrito pela Farmacopéia Americana (USP-2005) para avaliação de formas farmacêuticas de liberação gastro - resistentes. Os perfis de liberação foram obtidos no shaker descrito no item 3.1.5, com uma rotação de 100 rpm. A temperatura do equipamento foi mantida a 37°C com variação de $\pm 0,5^\circ\text{C}$.

Inicialmente pesava-se 0,5g de grânulos recobertos e colocava-os em um erlenmayer. O mesmo era levado ao shaker, com a temperatura de 37°C já estabelecida, onde se adicionava 75 mL de HCl 0,1M, dando início imediatamente ao ensaio de dissolução. Os grânulos permaneciam no meio ácido durante 120 min, simulando o meio gástrico. Durante esta etapa eram retiradas alíquotas nos

intervalos de 30, 60 e 120 min, para a posterior quantificação dos princípios ativos (flavonóides e fenóis totais). Após esse tempo eram adicionados ao meio de dissolução 25 mL de fosfato de sódio tribásico 0,2 M, simulando desta forma o meio entérico. Nesta etapa retiravam-se alíquotas em 125, 130, 140 e 165 min. É importante ressaltar que para cada intervalo utilizava-se um erlenmayer contendo o meio de dissolução.

Em cada intervalo era retirada uma amostra de 50 mL para secagem em estufa com circulação de ar, na temperatura de 50°C durante 24h, para posterior quantificação dos flavonóides. Outra amostra era guardada em recipientes apropriados, protegidos da luz, para a quantificação dos fenóis totais.

A eficiência da dissolução foi calculada através da Equação 3.3, que representa a quantidade de princípio ativo dissolvido em relação à quantidade total presente nos grânulos:

$$\eta = \frac{m_d}{m_t} \cdot 100 \quad (3.3)$$

3.3. Quantificação dos princípios ativos

3.3.1 Quantificação de flavonóides

A metodologia para a dosagem de flavonóides foi baseada no método descrito por Pachú et al. (2007). Primeiramente, foi construída uma curva de calibração utilizando a quercetina como padrão analítico, conforme o procedimento descrito a seguir:

Inicialmente, 5mg de quercetina foram diluídos num balão volumétrico de 100 mL contendo uma solução etanólica a 40% (v/v). A partir desta solução padrão foram feitas diluições em concentrações pré-estabelecidas, do seguinte modo:

Primeiramente, obteve-se a solução de compensação, partindo de 0,5 mL da solução padrão em balão de 25 mL, completando o volume com solução etanólica a 40%.

A solução amostra foi preparada com 0,5 mL da solução padrão em balão de 25 mL, onde em seguida adicionava-se 2 mL de solução de cloreto de alumínio a 0,5% e completava-se o volume com a solução etanólica a 40%. Desta forma foi obtido o primeiro ponto da curva de calibração. Os demais pontos foram obtidos de forma semelhante, modificando apenas o volume da solução padrão. Após a preparação das amostras aguardava-se 30 minutos de reação. Em seguida, realizavam-se as leituras em espectrofotômetro UV- visível no comprimento de onda de 425 nm. É importante ressaltar que para cada amostra utilizava-se uma solução de compensação como amostra em branco.

A quantificação dos flavonóides liberados nos ensaios de dissolução foi realizada da seguinte forma:

Primeiro, retirava-se as amostras da estufa, para onde foram levadas após o ensaio de dissolução *in vitro* com a finalidade de obter evaporação total do solvente. Em seguida, fazia-se uma diluição dessas amostras em 50 mL de etanol a 40%. A diluição era feita agitando-se a solução com um bastão de vidro até total diluição da amostra.

Após a diluição filtrava-se os primeiros 30 mL e desprezava-o. Em seguida filtrava-se os 20 mL restantes. Uma alíquota de 10 mL era retirada do filtrado, onde adicionava-se 2mL de cloreto de alumínio a 5% e acrescentava o volume com etanol a 40% num balão de 25 mL. Em seguida, esperava-se o tempo de reação de 30 min e faziam-se as leituras da absorbância em espectrofotômetro UV-visível a 425 nm. As amostras em branco foram preparadas com 10 mL do filtrado acrescidos para 25 mL com etanol a 40%.

3.3.2 Quantificação de fenóis totais

A metodologia usada para a determinação dos fenóis totais foi baseada no procedimento adotado por Pansera et al. (2003), conforme descrito a seguir:

A curva de calibração para a quantificação dos fenóis totais foi realizada com ácido tânico, padrão analítico, diluído numa solução de HCl (0,1M) e fosfato de sódio tribásico (0,2M), cujo pH desta solução era aproximadamente 7,0. As concentrações utilizadas foram de 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para o primeiro ponto da curva retirou-se 0,25 mL da solução padrão de ácido tânico, adicionou-se 2 mL do reagente de Folin-Denis e 4ml de Na_2CO_3 , completando o volume para 8 mL com a solução neutra (HCl + fosfato). Em seguida, esperou-se o tempo de reação de 2h. Logo após, retirou-se 2mL dessa solução e fez-se uma diluição para 25mL com uso da solução neutra. Os demais pontos foram obtidos da mesma forma, de modo a atingir as concentrações de ácido tânico desejadas. A absorbância foi lida a 725 nm num espectrofotômetro UV – visível. Uma amostra em branco foi utilizada a cada leitura.

Após os ensaios de dissolução, as alíquotas retiradas em cada intervalo também foram submetidas à quantificação de fenóis totais. O procedimento foi semelhante ao descrito para a curva de calibração, porém eram retirados 2mL das amostras.

CAPÍTULO 4

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo serão apresentados os resultados relacionados aos estudos de granulação por via úmida do extrato de quebra-pedra e dissolução *in vitro* dos grânulos recobertos em leite de jorro.

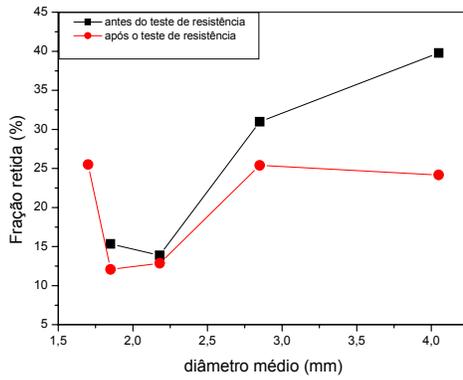
Em relação ao processo de granulação foi analisado estatisticamente o efeito do volume de etanol e do tempo de granulação sobre a resistência mecânica dos grânulos. Através da análise estatística e da caracterização mediante distribuição granulométrica foram avaliadas as condições de operação que contribuíram para formar grânulos mais resistentes e, portanto, mais adequados ao processo de recobrimento em leite de jorro, visando aumentar a eficiência deste processo e, conseqüentemente, melhorar a qualidade do recobrimento, de modo a garantir a gastro - resistência do filme polimérico de revestimento.

A respeito dos ensaios de dissolução *in vitro* foram obtidos os perfis de dissolução dos princípios ativos (flavonóides e fenóis totais) para as diversas condições de recobrimento dos grânulos, onde se analisou estatisticamente a influência da temperatura do ar de secagem e da vazão da suspensão de recobrimento sobre a dissolução dos princípios ativos. Foi proposto um modelo de primeira ordem para descrever a cinética de dissolução.

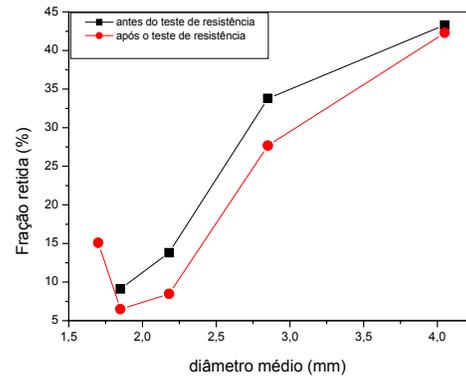
4.1 Granulação

4.1.1 Distribuição granulométrica

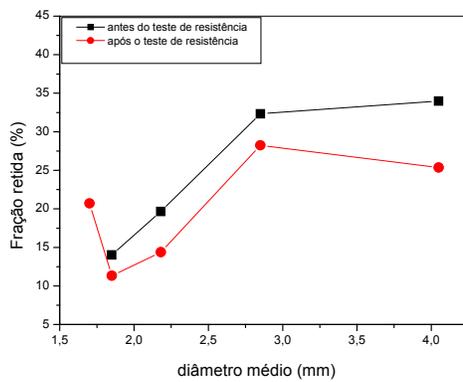
Os resultados obtidos quanto à distribuição granulométrica estão indicados na Figura 4.1, onde pode ser vista a comparação da fração de grânulos retidos em cada peneira antes e após o teste de resistência em leite de jorro.



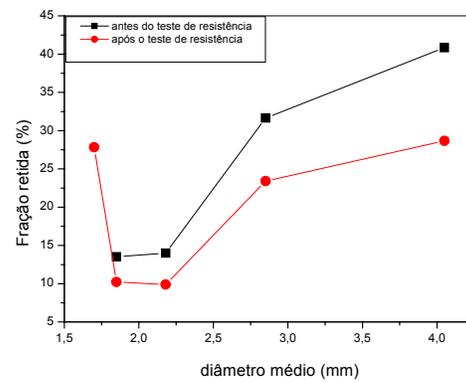
a



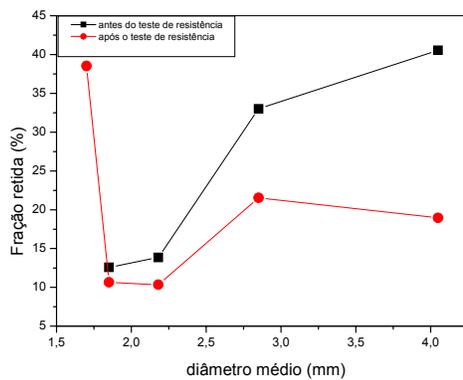
b



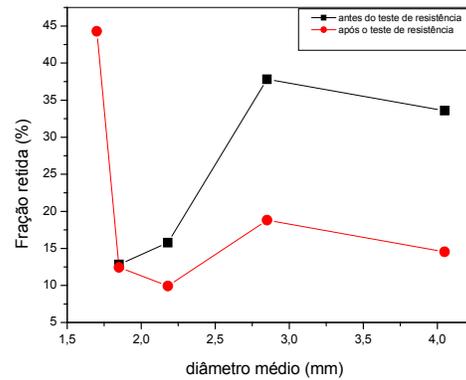
c



d



e



f

Figura 4.1 – Fração de grânulos retidos nas peneiras em função do diâmetro médio de grânulos: a (7 mL; 12 min); b (11 mL; 12 min); c (7 mL; 6 min); d (11 mL; 6 min); e (9 mL; 9 min); f (9 mL; 9 min).

Na Figura 4.1 observa-se que foi incluído o valor da massa de partículas com diâmetro menor que 1,70 mm, correspondente às perdas devido à quebra de partículas durante o teste de resistência em leito de jorro. Nota-se que em todos os

casos houve aumento da proporção de finos e diminuição da fração de partículas grossas após o teste de resistência, provocado pelo atrito entre as partículas, ou até mesmo pela quebra de algumas delas.

Através das curvas da Figura 4.1 verifica-se que a condição de granulação correspondente a 7mL e 6 min (Figura 4.1c) foi a que proporcionou um menor aumento da percentagem de finos, indicando menor quebra de partículas. Observa-se que aumentando o volume de etanol neste mesmo tempo também aumentou a percentagem de finos (Figura 4.1d). No entanto, essa distribuição granulométrica não é suficiente para avaliar se houve efeito do volume e/ou do tempo sobre a resistência mecânica dos grânulos. O pior resultado foi obtido no ponto central da matriz experimental (Figuras 4.1e; 4.1f), com a maior porcentagem de finos e diminuição dos grossos.

Na Tabela 4.1 verifica-se os valores dos diâmetros médios dos grânulos antes (d_i) e após (d_f) o teste de resistência, e do índice de quebra (IQ), obtidos nas condições do planejamento experimental.

Tabela 4.1 – Valores dos diâmetros médios e índice de quebra dos grânulos.

Ensaio	t (min)	V (mL)	d_i (mm)	d_f (mm)	IQ
1	6	7	2,22	1,64	0,261
2	12	7	2,13	1,59	0,253
3	6	11	2,08	1,45	0,303
4	12	11	1,88	1,27	0,325
5	9	9	2,04	1,33	0,348
6	9	9	2,13	1,23	0,422
7	9	9	2,17	1,25	0,424

Através da Tabela 4.1 observa-se que aumentando o volume de etanol diminui os diâmetros inicial e final. Como consequência da diminuição do diâmetro final, verifica-se que o índice de quebra aumenta para as condições de maior volume de etanol. O efeito do tempo sobre as variáveis dependentes ainda parece

indefinido, pois se percebe que aumentando o tempo diminui o diâmetro final, porém não se verifica uma relação definida com o índice de quebra. No ponto central encontram-se os maiores índices de quebra.

4.1.2 Análise estatística do estudo da granulação

O efeito das variáveis independentes (volume de etanol e tempo de granulação) sobre as variáveis dependentes (diâmetros inicial e final, e índice de quebra) foi avaliado mediante uma análise estatística, com um nível de 95% de confiança.

Através do diagrama de Pareto (Figura 4.2) verifica-se que nenhuma variável foi estatisticamente significativa sobre o diâmetro médio inicial dos grânulos, ao nível de 95% de confiança. O coeficiente de determinação (R^2) neste caso foi de 0,888.

Analisando apenas as tendências, nota-se que o diâmetro médio inicial tende a diminuir com o aumento do volume de etanol e do tempo de granulação, bem como com o efeito combinado dessas duas variáveis. No entanto, não havendo significância, estas tendências não podem ser confirmadas através de modelos estatísticos, e outros fatores não considerados poderiam estar influenciando na distribuição granulométrica.

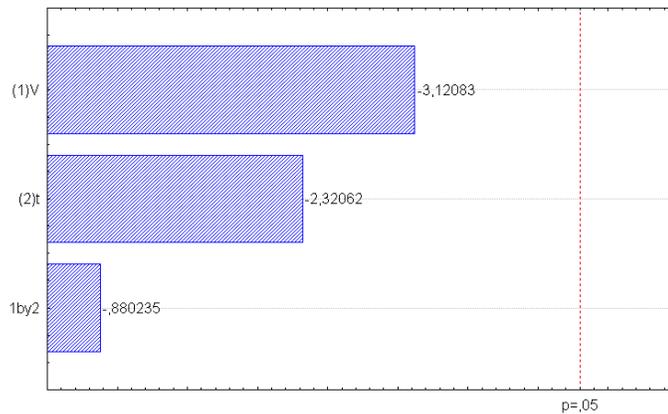


Figura 4.2 – Diagrama de Pareto (diâmetro médio inicial).

A Figura 4.3 representa o diagrama de Pareto do efeito das variáveis independentes sobre o diâmetro médio final dos grânulos, ao nível de 95% de confiança, com coeficiente de determinação 0,502.

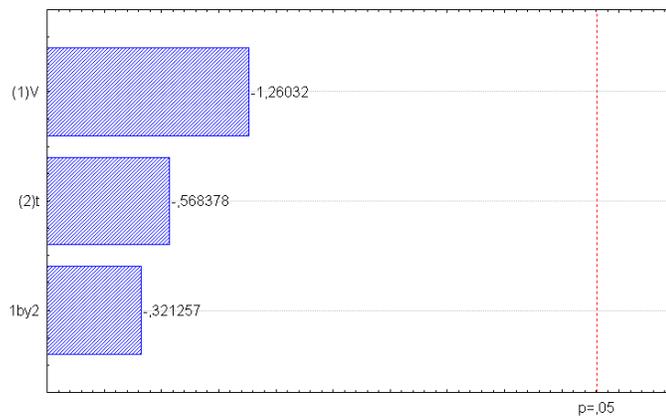


Figura 4.3 - Diagrama de Pareto (diâmetro médio final).

Observa-se através da Figura 4.3 que nenhuma variável foi estatisticamente significativa. Porém, percebe-se que o volume de etanol tende a ser a variável com maior significância, indicando que quanto maior o volume de etanol utilizado na preparação dos grânulos menor será o diâmetro médio final deles. Tal efeito provavelmente foi causado pelo tempo de permanência dos grânulos na estufa durante a etapa de secagem. Como todos os grânulos formados permaneceram na

estufa no mesmo intervalo de tempo, supõe-se que os grânulos menos umedecidos tiveram tempo suficiente para solidificar as pontes líquidas e assim formaram grânulos com forças de interação entre as partículas mais resistentes em relação aos grânulos mais umedecidos. Portanto, com pontes sólidas não tão resistentes, os grânulos preparados com um maior volume de etanol tiveram provavelmente uma maior quebra e perdas de finos pelo atrito durante o teste em leito de jorro, diminuindo desta forma o diâmetro médio final. Verifica-se também que o diâmetro final tende a diminuir com o aumento do tempo e com o efeito combinado tempo/volume.

Através da Figura 4.4 nota-se que sobre o índice de quebras as variáveis também não foram estatisticamente significativas ao nível 95% de confiança. O coeficiente de correlação foi de 0,122, indicando a baixa qualidade do modelo estatístico.

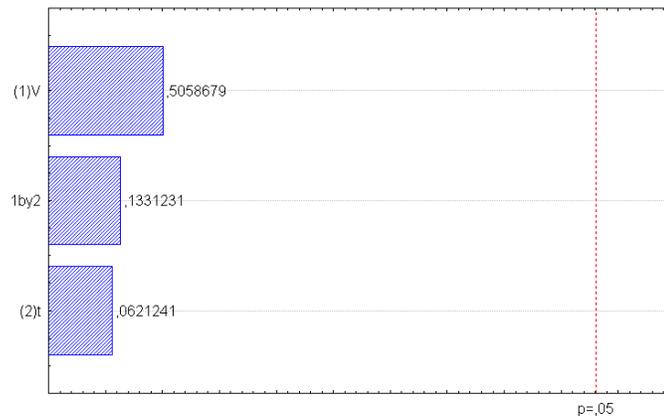


Figura 4.4 - Diagrama de Pareto (índice de quebra).

Analisando as tendências indicadas na Figura 4.4, observa-se que quanto maior o volume de etanol utilizado, o índice de quebra dos grânulos tende a aumentar. Neste caso confirma-se o que já foi discutido, ou seja, que os grânulos preparados com maior volume de etanol são menos resistentes, conseqüentemente há um maior índice de quebra durante o processo em leito de jorro.

4.1.2.1 Efeito da curvatura

A Figura 4.5 representa os resíduos em função dos valores observados para o diâmetro médio inicial (a), diâmetro médio final (b) e índice de quebra (c). Percebe-se que não há aleatoriedade dos resíduos, sugerindo a necessidade da introdução de termos quadráticos nos termos dessas variáveis, ou seja, a ampliação da matriz com a introdução de pontos axiais.

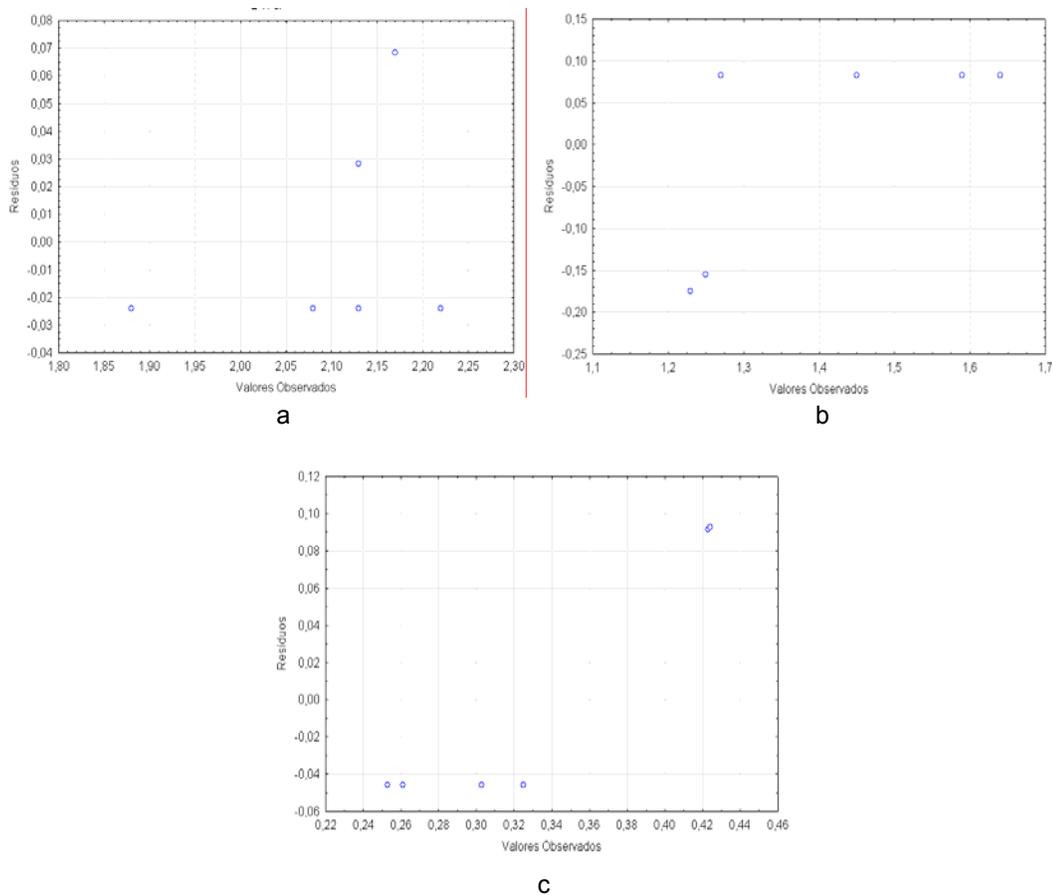


Figura 4.5 – Resíduos em função dos valores observados: diâmetro inicial (a), diâmetro final (b) e índice de quebra (c).

Para confirmar a necessidade de pontos axiais foi introduzido o efeito da curvatura na análise estatística. A análise de curvatura é uma opção que o próprio software oferece, e que permite verificar se há ou não necessidade de introduzir

termos quadráticos na matriz experimental. Na Figura 4.6 observa-se que a curvatura foi a variável mais estatisticamente significativa, ao nível de 95% de confiança, sobre o diâmetro médio final e índice de quebra, seguida do volume de etanol. O coeficiente de determinação foi 0,999 para essas variáveis, indicando mais uma vez a necessidade de introdução de termos quadráticos de modo a obter modelos estatísticos significativos e preditivos para melhor descrever os efeitos do volume de solvente e tempo de operação sobre a qualidade dos grânulos obtidos por via úmida.

Nota-se, através da Figura 4.6a, que o efeito da curvatura não foi estatisticamente significativo sobre o diâmetro médio inicial. Provavelmente, o diâmetro inicial depende principalmente das peneiras utilizadas no processo de granulação, e este efeito poderia estar mascarando a influência das outras variáveis de entrada.

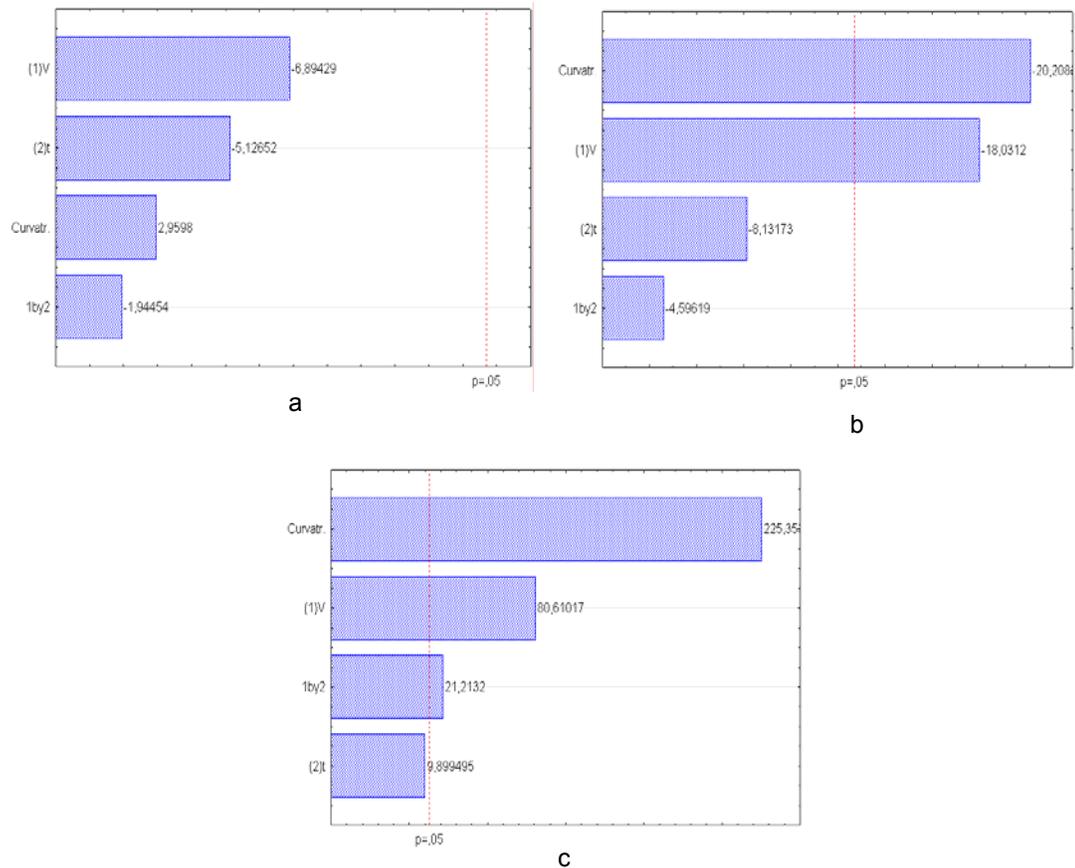


Figura 4.6 – Diagrama de Pareto com efeito da curvatura: diâmetro inicial (a), diâmetro final (b) e índice de quebra (c).

4.2 Cinética de dissolução dos flavonóides

A Figura 4.7 representa o perfil de dissolução dos flavonóides, obtido a partir dos grânulos de quebra-pedra não recobertos. Verifica-se uma menor dissolução de flavonóides na etapa ácida, ou seja, antes de 120 min, e uma maior liberação durante a etapa alcalina, a partir de 120 min de dissolução.

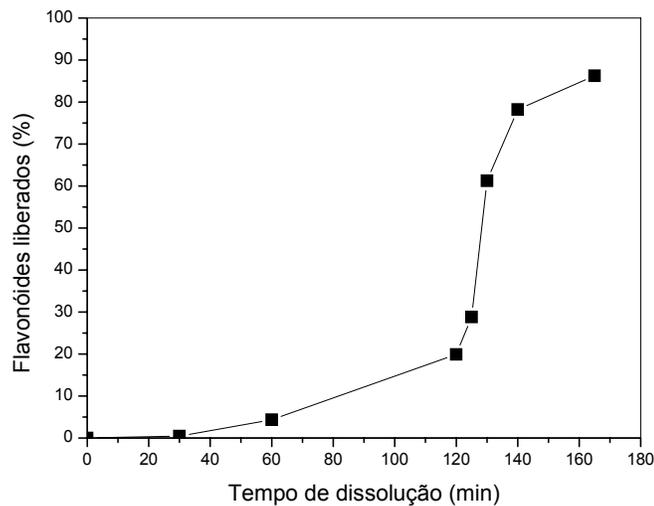


Figura 4.7 – Perfil de dissolução dos flavonóides para os grânulos não recobertos.

A Figura 4.8 mostra os perfis de dissolução dos flavonóides para os grânulos recobertos, onde se pode observar a influência das variáveis do processo de recobrimento, temperatura do ar e vazão da suspensão, sobre a liberação de flavonóides em função do tempo. Comparando os perfis da Figura 4.8 com o perfil da Figura 4.7, nota-se que o filme polimérico de revestimento dos grânulos apresentou gastro - resistência em relação aos flavonóides, uma vez que só houve dissolução na fase alcalina. Durante os ensaios de dissolução *in vitro* foi observado que o filme permaneceu resistente na etapa ácida, sendo desintegrado totalmente na fase alcalina.

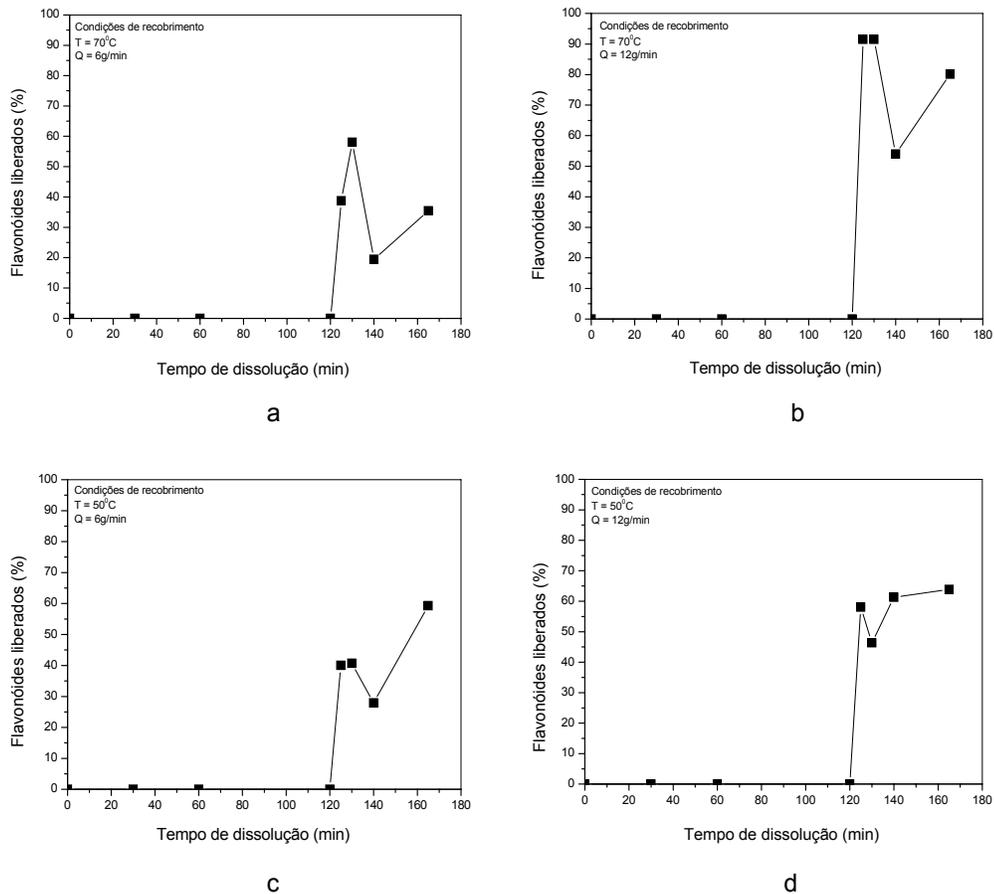


Figura 4.8 - Perfis de dissolução dos flavonóides.

Um fato interessante, observado nos perfis de dissolução da Figura 4.8, é uma cinética de liberação aparentemente rápida no início da fase alcalina, atingindo um pico aproximadamente aos 130 min de dissolução. Percebe-se que após este ponto de máximo há uma diminuição da quantidade de flavonóides presente no meio, que em seguida aumenta por causa da continuação da dissolução. Para justificar este comportamento foram sugeridas a princípio duas hipóteses, descritas a seguir:

- degradação de flavonóides com o tempo na fase líquida, compensada posteriormente pela continuação da dissolução;
- dissolução simultânea de algum componente presente nos grânulos ou no filme, que poderia estar reagindo ou mascarando o produto da reação; a hipótese de

interferência de algum dos componentes do filme parece bastante provável, especialmente devido à desagregação e dispersão do filme observada logo após o início da fase alcalina em todos os experimentos;

O uso de um shaker como adaptação de um dissolutor convencional poderia de alguma forma ter interferido nos resultados. A validação dos equipamentos utilizados nos ensaios de liberação *in vitro* tem sido objeto de imensa discussão, dada a grande importância que este parâmetro possui para a credibilidade de resultados (MANADAS, 2002).

Em ensaios realizados com dissolutor convencional, através do método da pá agitadora, e com grânulos de quebra-pedra obtidos e recobertos, que permaneceram armazenados durante pouco tempo (em torno de três meses), os resultados de Rocha (2006) apresentaram algumas diferenças em relação ao presente trabalho. Em particular, Rocha (2006) não observou a presença do pico de dissolução nos perfis encontrados.

A Figura 4.9 representa os perfis de dissolução relacionados aos grânulos recobertos nas condições do ponto central.

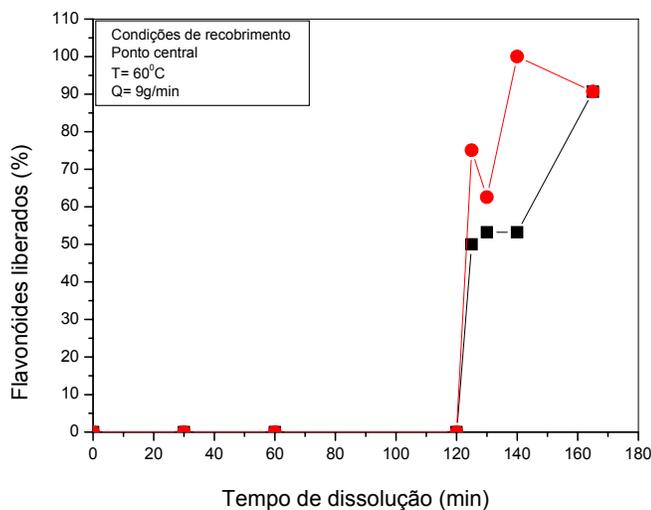


Figura 4.9 – Perfil de dissolução (ponto central).

Observa-se, através da Figura 4.9, que houve uma reprodutibilidade razoável dos ensaios de dissolução, e que após 165 min os dois experimentos apresentaram praticamente a mesma porcentagem dissolvida. As diferenças observadas na cinética de liberação podem ser atribuídas às amostras utilizadas para cada intervalo de tempo, pois, apesar de apresentarem a mesma massa, possuíam grânulos de tamanhos variados e de formas irregulares, causadas pela granulação manual. O tempo de armazenamento também pode ter influenciado, desgastando o filme de certas partículas mais do que de outras.

A Tabela 4.2 mostra a eficiência da dissolução (η) aos 165 min, para cada condição de recobrimento, e os valores do crescimento dos grânulos (δ).

Tabela 4.2 – Eficiência da dissolução de flavonóides aos 165 min.

Ensaio	T (°C)	W (g/min)	η (%)	δ (%)
1	70	6	35,44	13,08
2	70	12	80,12	11,73
3	50	6	59,32	15,86
4	50	12	63,89	12,78
5	60	9	37,58	9,32
6	60	9	90,64	10,06
7	60	9	90,69	9,74

Comparando os ensaios 1 e 2, percebe-se que aumentando a vazão de 6 para 12 g/min houve uma diminuição do crescimento da partícula, o que provocou uma maior liberação de flavonóides em 165 min de dissolução, como pode ser visto através do aumento da eficiência. A mesma resposta foi observada nos ensaios 3 e 4, onde a temperatura de 50°C foi mantida constante. Rocha (2006) atribuiu a diminuição do crescimento da partícula com o aumento da vazão a uma maior perda de suspensão nas paredes do leito, fator causado provavelmente por uma alta pressão de atomização da suspensão de recobrimento.

Em relação à influência da temperatura, nota-se através dos ensaios 4 e 2 que o aumento da mesma provocou diminuição do crescimento da partícula, aumentando assim a porcentagem de flavonóides liberada em 165 min, e conseqüentemente aumentando a eficiência da dissolução. No entanto, o mesmo não foi observado fixando a vazão de 6 g/min (ensaios 1 e 3), onde aumentando a temperatura o crescimento também diminuiu, porém a porcentagem dissolvida não aumentou, ou seja, neste caso diminuiu a eficiência da dissolução. De acordo com Rocha (2006), para temperaturas mais elevadas a suspensão tende a secar e ser arrastada para fora do leito antes mesmo de alcançar as partículas, provocando assim um menor crescimento das mesmas.

Através da Tabela 4.2 também é possível verificar a relação linear entre o crescimento dos grânulos e a eficiência da dissolução. Observa-se que quanto maior o crescimento do grânulo diminui a dissolução de flavonóides, com exceção dos ensaios 3 e 6. Esse comportamento está de acordo com o esperado e citado na literatura.

Como o revestimento garantiu gastro – resistência em relação aos flavonóides, todas as condições de temperatura e de vazão foram satisfatórias, no entanto, como se deseja uma maior eficiência de dissolução na etapa alcalina, as condições mais adequadas para atingir este objetivo foram as referentes ao ponto central (9 g/min e $T= 60^{\circ}\text{C}$), e com 12 g/min e 70°C . Isto não quer dizer que quanto menor o crescimento da partícula, melhor ou mais eficiente será a dissolução, mas sim, que existe um mínimo de crescimento suficiente para garantir a gastro-resistência do filme utilizado no recobrimento, ou seja, que não permita a liberação de princípios ativos no meio gástrico (antes dos 120 min), representado pela etapa ácida da dissolução.

A Figura 4.10 mostra a comparação dos perfis de dissolução de flavonóides obtidos neste trabalho com os obtidos por Rocha (2006), nas mesmas condições de recobrimento dos grânulos. Observa-se claramente que em ambas as curvas a liberação de flavonóides só ocorreu no meio alcalino (após 120 min). No entanto, pode ser visto o efeito do tempo de armazenamento dos grânulos recobertos sobre a cinética de liberação dos flavonóides, ao observar que houve um percentual de

dissolução bem maior após dois anos, como consequência provavelmente do desgaste do filme, contudo, este tempo não afetou a gastro - resistência do filme em relação aos flavonóides.

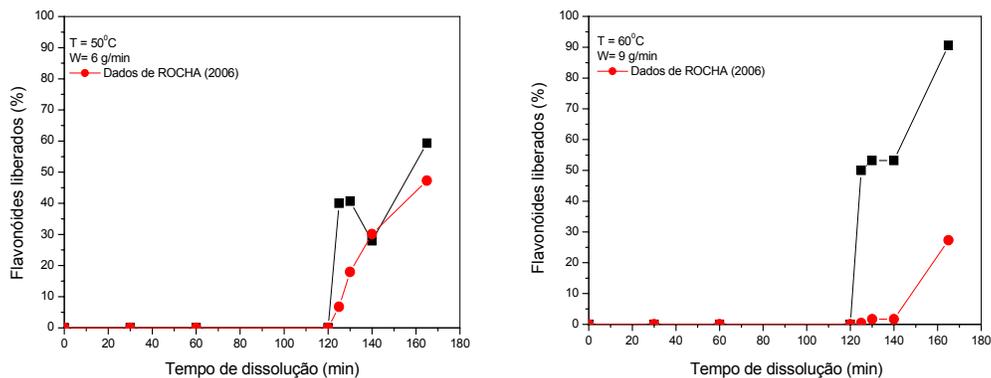


Figura 4.10 – Comparação dos perfis de dissolução.

4.2.1 Análise estatística da cinética de dissolução dos flavonóides

A Figura 4.11 representa o diagrama de Pareto do efeito das variáveis independentes sobre a eficiência da dissolução de flavonóides, onde percebe-se que nenhuma variável foi estatisticamente significativa neste nível de confiança. Com relação à percentagem de variação explicada, com coeficiente de determinação (R^2) de 0,44, pode-se inferir que o modelo estatístico não é significativo. Porém, analisando apenas através das tendências, é possível verificar que quanto maior a vazão maior a eficiência de dissolução dos flavonóides. Como vimos anteriormente, com o aumento desta variável diminui o crescimento da partícula, facilitando desta forma a dissolução.

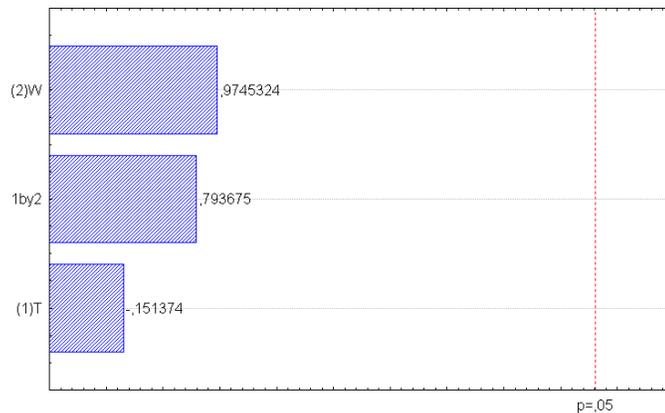


Figura 4.11 - Diagrama de Pareto do efeito das variáveis independentes sobre a eficiência de dissolução.

O efeito combinado vazão/temperatura está em segundo lugar na tendência. Com o aumento simultâneo destas variáveis a eficiência de dissolução tende a aumentar, o que provavelmente deve ser consequência de um menor crescimento dos grânulos. A temperatura foi a variável que teve menor tendência sobre a eficiência da dissolução. Na Figura 4.11 percebe-se que a eficiência tende a diminuir com o aumento da temperatura.

A Figura 4.12 relaciona os resíduos em função dos valores observados, onde se verifica que há uma não aleatoriedade dos resíduos e há um ponto de máximo, sugerindo a necessidade de ampliação da matriz com termos quadráticos. A Figura 4.13 confirma essa necessidade ao mostrar que o efeito da curvatura foi a variável mais estatisticamente significativa, com coeficiente R^2 igual a 0,99.

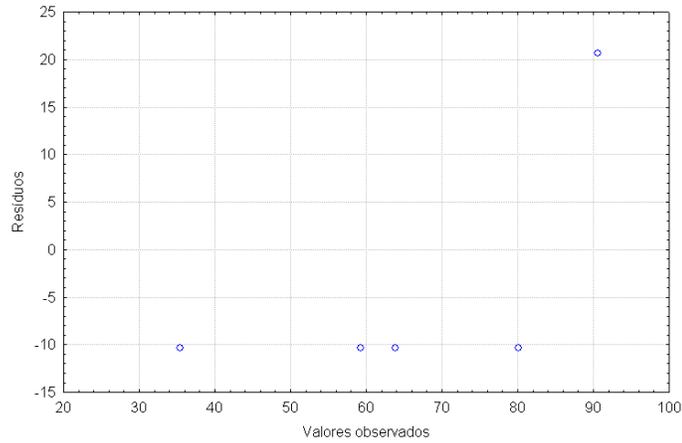


Figura 4.12 – Resíduos em função dos valores observados para a eficiência de dissolução.

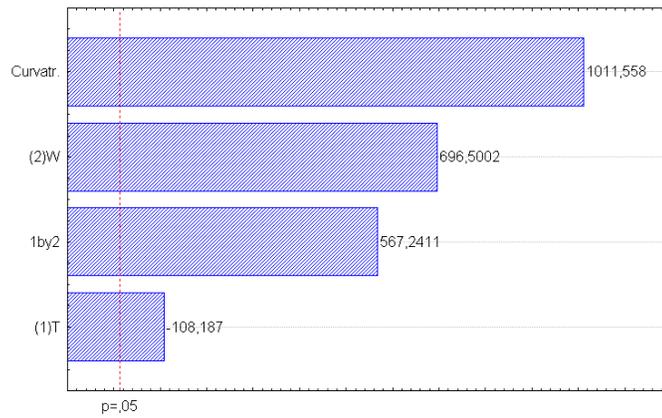


Figura 4.13 – Diagrama de Pareto com efeito da curvatura para a eficiência de dissolução.

4.3 Cinética de dissolução dos fenóis totais

As Figuras 4.14 e 4.15 mostram os perfis de dissolução dos fenóis totais para os grânulos sem e com recobrimento, respectivamente.

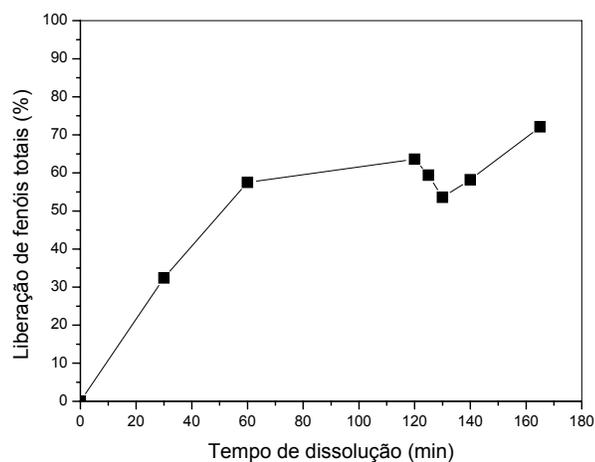


Figura 4.14 – Perfil de dissolução dos fenóis totais para os grânulos não recobertos.

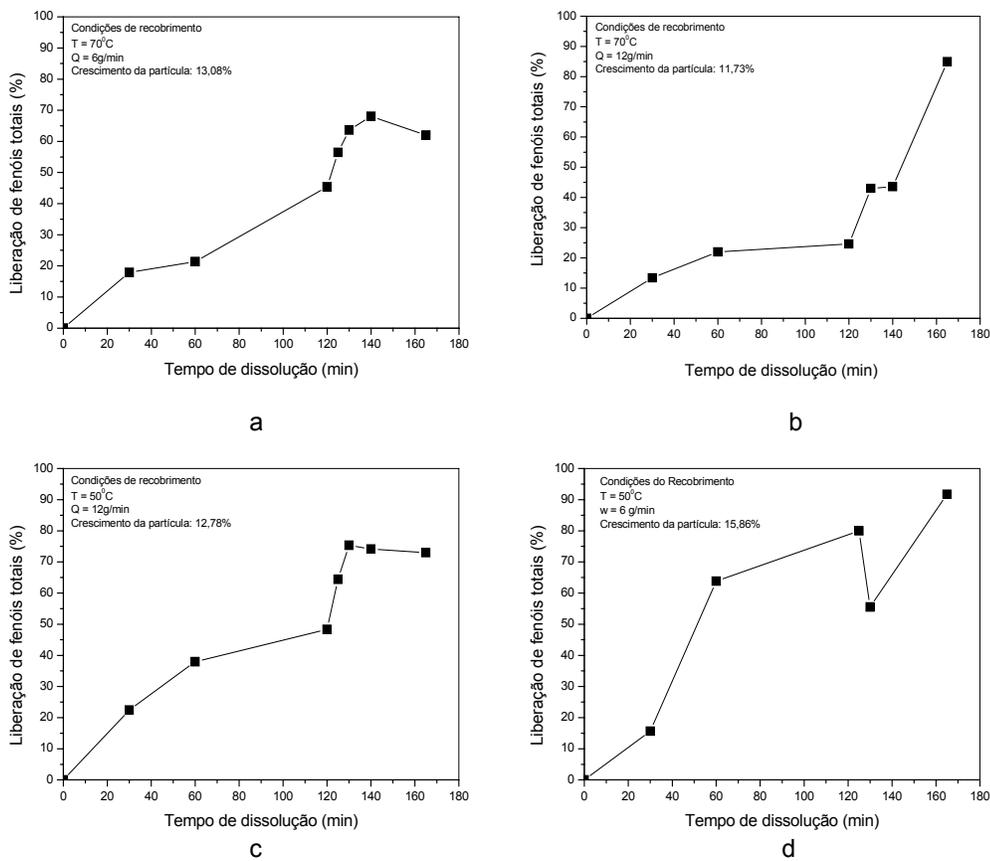


Figura 4.15 – Perfis de dissolução dos fenóis totais.

Comparando os perfis de dissolução das Figuras 4.14 e 4.15, verifica-se que o filme de revestimento dos grânulos apresentou uma gastro - resistência parcial em relação aos fenóis totais, já que houve liberação de fenóis a partir dos primeiros instantes de dissolução, ou seja, na etapa ácida, porém em quantidade bem menor para os grânulos com revestimento polimérico. Este comportamento não foi observado para os flavonóides, para os quais, dentro da precisão dada pela sensibilidade do método analítico utilizado, o filme se mostrou gastro - resistente. É importante ressaltar que os fenóis totais englobam cerca de cinco mil fenóis, dentre eles os flavonóides (ANGELO e JORGE, 2006), onde cada um certamente apresenta cinética de dissolução diferente.

Além do desgaste do filme, outros fatores poderiam ter contribuído para os princípios ativos se difundirem no meio ácido, como:

- A presença de falhas e fissuras na superfície das partículas (devido à granulação manual), que constituiriam caminhos para a difusão e transferência dos princípios ativos do interior da partícula para o meio ácido;
- partículas de extrato seco, produzidas pelo atrito no leito de jorro durante o recobrimento, poderiam ter sido aderidas ao filme na etapa de secagem da suspensão polimérica.

Comparando as Figuras 4.15a e 4.15b, nota-se que o aumento da vazão também contribuiu para aumentar a dissolução dos fenóis totais, por causa da diminuição do crescimento da partícula. Este comportamento não foi observado fixando a temperatura em 50⁰C (Figuras 4.15c e 4.15d). Aumentando a temperatura, para a vazão fixa de 12 g/min, aumentou também a dissolução aos 165 min. No entanto, fixando a vazão de 6 g/min não houve aumento da porcentagem dissolvida aos 165 min, apesar da diminuição do crescimento do filme. A mesma resposta foi encontrada para os flavonóides ao aumentar a temperatura mantendo a vazão em 6 g/min, como já foi visto anteriormente.

A eficiência de dissolução (η) dos fenóis totais também seguiu um comportamento linear em relação ao crescimento da partícula (δ), com exceção do ensaio quatro, como se mostra na Tabela 4.3:

Tabela 4.3 – Relação entre crescimento da partícula e eficiência da dissolução.

Ensaio	T (°C)	W (g/min)	δ (%)	η_d (%)
1	70	6	13,08	62,00
2	70	12	11,73	84,96
3	50	12	12,78	72,96
4	50	6	15,86	91,73

4.4. Modelagem da cinética de dissolução dos princípios ativos

Para modelar a cinética de dissolução dos princípios ativos foi proposto um modelo de primeira ordem, representado por $-\ln[1 - (m_d/m_t)]$ em função do tempo. Para os flavonóides, o modelo foi aplicado na fase alcalina, onde teve início a dissolução. Já para os fenóis totais a modelagem também incluiu a etapa ácida.

A Figura 4.16 mostra o ajuste dos dados experimentais ao modelo de primeira ordem, obtido para os ensaios 2, 4 e 6 de dissolução dos flavonóides.

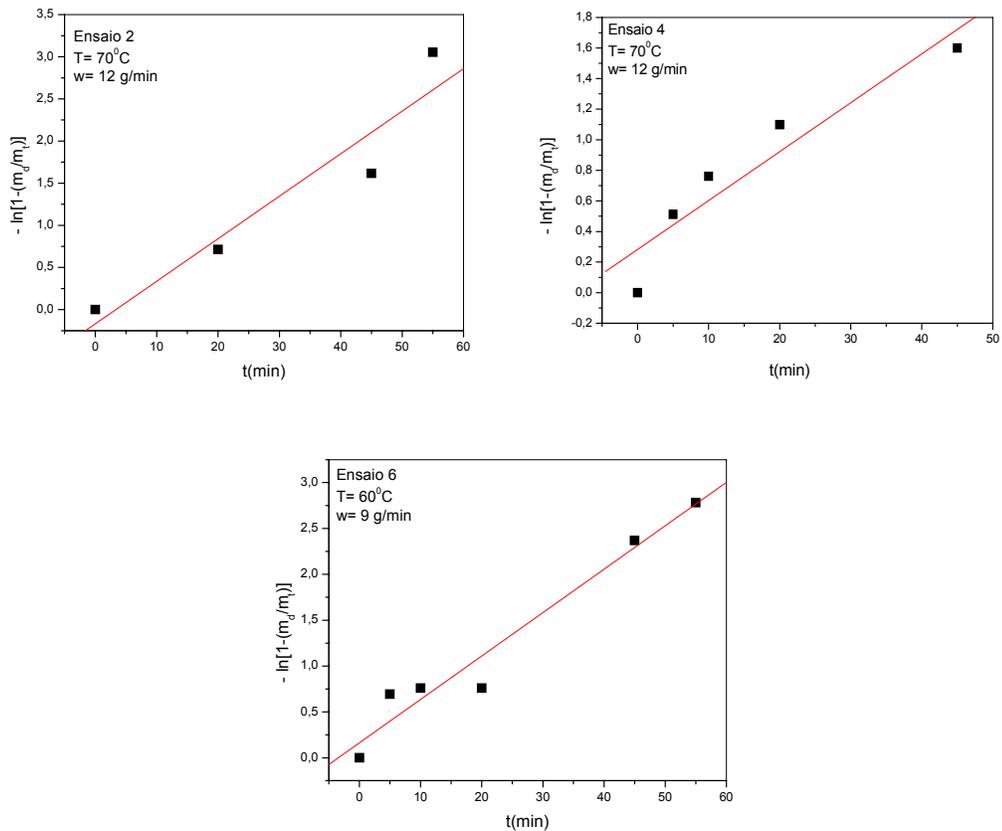


Figura 4.16 – Ajuste ao modelo cinético de primeira ordem para a cinética de dissolução dos flavonóides.

A Tabela 4.4 mostra os valores das constantes cinéticas (k) e dos coeficientes de correlação (R^2) obtidos através do ajuste para os ensaios 2, 4 e 6. A título de comparação, no presente trabalho também foi proposto o mesmo modelo cinético para os resultados obtidos por Rocha (2006), onde os parâmetros cinéticos estão apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 – Modelagem da cinética de dissolução dos flavonóides.

Ensaio	T (°C)	w (g / min)	k (min ⁻¹)	R ²	Rocha (2006)	
					k (min ⁻¹)	R ²
2	70	12	0,05016	0,953		
4	50	6	0,032	0,945	0,0142	0,9899
6	60	9	0,04737	0,978	0,007	0,927

Através da Tabela 4.4 verifica-se que a cinética de dissolução dos flavonóides ajustou-se razoavelmente bem ao modelo de primeira ordem proposto, com coeficientes de correlação variando de 0,945 a 0,978. Os ajustes obtidos com os perfis de Rocha (2006) também comprovam a cinética de primeira ordem, com R² de 0,9899 e 0,927 para os ensaios 4 e 6, respectivamente. Comparativamente, percebe-se que os valores das constantes cinéticas para os ensaios de dissolução desenvolvidos neste trabalho foram maiores do que os valores obtidos através do ajuste aos dados de Rocha (2006). Isto comprova que houve um envelhecimento e desgaste do filme, aumentando desta forma a taxa de dissolução dos flavonóides na fase entérica. No entanto, apesar do desgaste, o filme manteve ainda a sua gastro-resistência em relação aos flavonóides. Estudos mais aprofundados acerca da estabilidade farmacológica dos princípios ativos e da resistência do filme ao longo do tempo deverão ser realizados para confirmar as tendências observadas no presente trabalho.

A Figura 4.17 representa o ajuste linear ao modelo de primeira ordem, referente à cinética de dissolução dos fenóis totais. Como dito anteriormente, esse modelo foi aplicado desde a fase ácida, uma vez que foi onde teve início a dissolução dos fenóis totais.

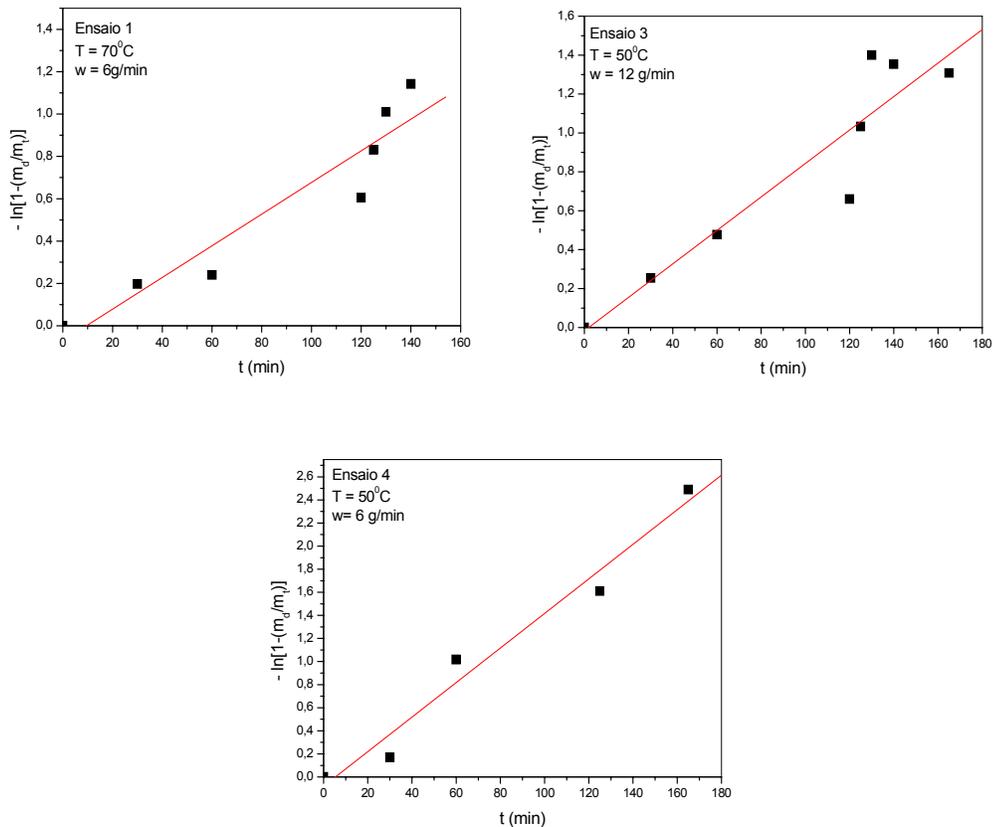


Figura 4.17 – Ajuste ao modelo cinético de primeira ordem para a cinética de dissolução dos fenóis totais.

A Tabela 4.5 mostra os resultados relacionados ao ajuste da cinética de dissolução dos fenóis totais, onde pode ser visto os valores da constante cinética de dissolução e os coeficientes de correlação para os ensaios 1, 2, 3 e 4. Na Tabela 4.5 também pode ser visto o resultado de três ajustes aplicados apenas no meio alcalino (ensaios 1, 2, 3).

Na Tabela 4.5 nota-se, através do coeficiente de correlação, que a cinética de dissolução dos fenóis totais se ajustou de forma razoável ao modelo de primeira ordem para os ensaios 1, 3 e 4 em todo processo de dissolução, e para os ensaios 1 e 2 na fase alcalina. Observa-se que a constante cinética foi menor aplicando o modelo desde a fase ácida, e maior na fase alcalina, o que pode ser indicativo de uma gastro - resistência parcial na fase ácida, seguida da degradação total do filme no meio alcalino. Percebe-se que a constante k do meio alcalino está na mesma ordem

de grandeza da constante k obtida através do ajuste para a cinética dos flavonóides (Tabela 4.4). Os dados experimentais relacionados aos experimentos 2 (fase ácida) e 3 (fase alcalina) não foram ajustados adequadamente pelo modelo de primeira ordem, apresentando coeficientes de correlação de 0,748 e 0,59, respectivamente. Esta resposta provavelmente esta associada aos desvios dos resultados experimentais.

Tabela 4.5 – Modelagem da cinética de dissolução dos fenóis totais.

Ensaio	T (°C)	w (g/ min)	k (min ⁻¹)	R ²	Meio alcalino	
					k (min ⁻¹)	R ²
1	70	6	0,0075	0,949	0,026	0,956
2	70	12	0,0076	0,748	0,036	0,959
3	50	12	0,0086	0,936	0,01	0,59
4	50	6	0,015	0,9848		

5 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos têm-se as seguintes conclusões:

- O processo de granulação por via úmida não foi bem representado pelo modelo estatístico ao nível de 95% de confiança, uma vez que foi confirmada a necessidade de uma ampliação da matriz experimental com pontos axiais. Contudo, as tendências mostraram que o volume de etanol foi a variável com maior influência sobre os diâmetros inicial e final, e sobre o índice de quebra. Verificou-se, através das tendências, que um maior volume de etanol prejudica a resistência dos grânulos, uma vez que proporciona um aumento de quebra dos mesmos no leito de jorro;
- Em relação aos ensaios de dissolução, não foram detectados flavonóides no meio ácido através do método analítico utilizado, o que a princípio comprovaria a gastro – resistência do filme polimérico de revestimento dos grânulos. Contudo, o mesmo não foi observado para os fenóis totais, que se dissolveram já na etapa ácida. O desgaste do filme devido o tempo de armazenamento certamente foi um fator significativo que contribuiu para facilitar a liberação de fenóis no meio ácido. Os flavonóides até podem ter se dissolvido neste meio, mas como se apresentam em quantidade bem menor que os fenóis, podem não ter sido detectados através do método analítico adotado;
- A irregularidade dos grânulos, obtidos de forma manual, também podem ter facilitado a difusão dos princípios ativos para o meio ácido, já que os grânulos apresentavam muitos orifícios que podem não ter sido atingidos na etapa de recobrimento;
- Em geral, observou-se que a eficiência de dissolução dos princípios ativos apresentou comportamento linear em relação ao crescimento dos grânulos, ou seja, quanto maior a porcentagem de crescimento dos grânulos menor foi a dissolução;
- A análise estatística, realizada para avaliar o efeito da temperatura do ar e da vazão da suspensão de recobrimento sobre a eficiência de dissolução, não foi estatisticamente significativa ao nível de 95% de confiança, sugerindo também a

ampliação da matriz experimental com pontos axiais. Contudo, as tendências mostraram que com o aumento da vazão aumenta a dissolução dos princípios ativos, uma vez que diminui o crescimento do filme. Em relação ao aumento da temperatura o efeito combinado vazão/temperatura mostrou ter a tendência mais significativa do que a temperatura isolada;

- Os dados experimentais da cinética de dissolução dos princípios ativos adequaram-se satisfatoriamente ao modelo de primeira ordem, assim como os resultados obtidos por Rocha (2006).

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir dos resultados apresentados e da necessidade de continuação desse trabalho, encontram-se a seguir algumas sugestões para pesquisas futuras:

- Ampliar a matriz experimental do processo da granulação por via úmida e da dissolução *in vitro*, com a introdução de pontos axiais, visando avaliar com maior precisão o efeito das variáveis independentes sobre as dependentes;

- Realizar estudos sobre cinética de recobrimento, seguidos de ensaios de dissolução *in vitro*, tendo como finalidade otimizar o processo de recobrimento a fim de determinar o tempo suficiente de recobrimento que possa garantir gastro-resistência ao filme polimérico à base de Eudragit;

- Estudar o efeito de outras variáveis do processo de recobrimento sobre a dissolução *in vitro* dos princípios ativos;

- Testar outras metodologias para quantificar flavonóides.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C.; ROCHA, S. C. S. **Eficiência do processo de recobrimento de sementes de brócolos recobertas com polímero em leito de jorro.** Engenharia Agrícola, vol. 28, n.2, Jaboticabal, 2008.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. **Compostos fenólicos em alimentos:** uma breve revisão. Revista. Inst. Adolfo Lutz, 66(1): 232-240, 2007.

AYUB, G. S. E. **Recobrimento de uréia com enxofre fundido em leito de jorro.** Tese de Doutorado – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

BERNARDES, J. L. **A granulação de materiais.** Cerâmica Industrial, 2006.

BIESKI, I. G. C. **Utilização de medicamentos fitoterápicos com ênfase na *uncaria tomentosa* will d.c., dispensados em farmácias de manipulação na grande Cuiabá – MT.** Monografia apresentada ao Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2006.

BORINI, G. B. **Revestimento de partículas por solidificação de material fundido em leitos de jorro e fluidizado:** estudo do processo, caracterização das partículas e preparo de comprimidos. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, 2007.

CORAL, C.T. **Comunicação Pessoal.** Gerente de tecnologia da GALENA – Química e Farmacêutica, Campinas, SP, 2004.

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

CUNHA, R. L. G. **Caracterização fluidodinâmica no recobrimento de celulose microcristalina em leito fluidizado.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química, Campinas SP, 2004.

DONIDA, M. W. **Recobrimento polimérico da uréia em leito de jorro bidimensional.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP, 2000.

FARIA, M. H. G.; PESSOA, C. O.; FILHO, M. O. M. **Avaliação da citotoxicidade in vitro e da toxicidade in vivo de extratos da *Phyllanthus Amarus***. Pesquisa médica, Fortaleza, Ce, edição 2, n. 07, 2004.

FERREIRA, A. O. **Desenvolvimento magistral de cápsulas gelatinosas duras de liberação entérica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2006.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, vol.II, 2001.

LAGO, D. F.; PAULA, J.R.; BARA, M. T. F. **Estudo comparativo sobre a eficiência de métodos de extração dos polifenóis do chá verde (*camellia sinensis*)**. Revista Eletrônica de Farmácia, Vol. IV (2), p. 28-31, 2007.

LIRA, L. M. **Avaliação de sistemas nanoparticulados baseados em bentonita sódica purificada como incrementadores de dissolução em comprimidos preparados por granulação úmida e compressão direta**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, RJ, 2004.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F.. **A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 38, n. 4, 2002.

MAGALHÃES, P.C.; RODRIGUES, W. A.; DURÃES, F. O. M.. **Genética e Tecnologia Agropecuária**. Disponível na internet via www.sinueloagropecuaria.com.br. Arquivo disponível em 28 de Novembro de 2008.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamento, aplicações, aspectos regulatórios e perspectiva na área farmacêutica**. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos), USP, São Paulo, SP, 2003.

MARCUCCI, M. C.; WOISKY, R. G.; SALATINO, A. **Uso de cloreto de alumínio na quantificação de flavonóides em amostras de própolis**. Associação Paulista de Apicultores – APACAME, 2005.

MARTINELLO, V. C .A.; SERRA, C. H. R. **Estudo de Dissolução de Cápsulas Contendo Itraconazol: Desenvolvimento e Validação de Método**. Latin American Journal of Pharmacy (formerly Acta Farmacêutica Bonaerense), 2008.

MARTINS, G. Z.; OLIVEIRA, W. P. **Utilização do leito de jorro para a aplicação de revestimento entérico em cápsulas gelatinosas duras.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol. 39, n. 3, 2003.

MATHUR, K. B. e GISHIER, P. E., 1955. Apud MATHUR, K. B. e EPSTEIN, N., Spouted Beds, Academic Press. New York, 1974.

MEDEIROS, U. K. L. **Estudo da secagem do feijão verde (*Vigna unguiculata L. Walp*): análise experimental do processo combinado leito fixo/leito de jorro.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, RN, 2004.

MEIRA, M. **Projeto Pedagógico do Curso de Pós-graduação em Fitoterapia (*lato sensu*).** Faculdade Isaac Newton, Salvador, Ba, 2007.

NITZ, M. **Fluidodinâmica, secagem e recobrimento em leito pulso-fluidizado.** Tese de Doutorado. Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2006.

PACHÚ, C. O.; SOARES, O. S.; ALSINA, O. L. S. **Quantificação de Flavonóides em folhas de Hortelã após secagem convectiva.** In: XXXIII Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados. ENEMP 2007, Aracajú, SE, 2007.

PANSERA, M. R. et al. **Análise de taninos totais em plantas aromáticas e medicinais cultivadas no Nordeste do Rio Grande do Sul.** Revista Brasileira de farmacognosia, V. 13, n. 1, p. 17-22, 2003.

PETROVICK, P. R. **Tecnologia Farmacêutica I: Polígrafo de acompanhamento,** ed. 2000/II. Porto Alegre: Faculdade de Farmácia da UFRGS, 2000.

REMYNGTON, A. **A ciência e a Prática da Farmácia,** 20 ed., cap. 46, p. 1276-1278, 2004.

ROCHA, A. T. P. **Estudo do processo de recobrimento contínuo de extratos fitoterápicos secos em leito de jorro.** Tese (Doutorado em Engenharia de Processo). Universidade Federal de Campina Grande, PB, 2006.

RODRIGUES, L. N. C.; WATANABE, S. P.; FERRAZ, H. G. **Perfil de dissolução in vitro de comprimidos de primaquina disponíveis para tratamento de malária no**

Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical: vol.41, no.1, Uberaba, 2008.

ROSA, T. C. C. **Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Faculdade de farmácia, 2005.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. **Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%).** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas: vol.43, n.1, São Paulo, 2007.

SOUSA, C. M. M. et al. **Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais,** Revista Quimica Nova, Vol. 30, No. 2, 351-355, 2007.

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 Farm. Bonaerense* 24 (1): 61-7 (2005).

SOUZA, J.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. **Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, vol.43, n. 4, São Paulo, 2007.

TOLEDO, A. C. O. et al. **Fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica.** Revista Lecta, Bragança Paulista, v. 21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

UNITED States pharmacopoeia (USP), 28. ed. Rockville: The United States Convention, 3187 p, 2005.

ANEXO

Curvas de Calibração

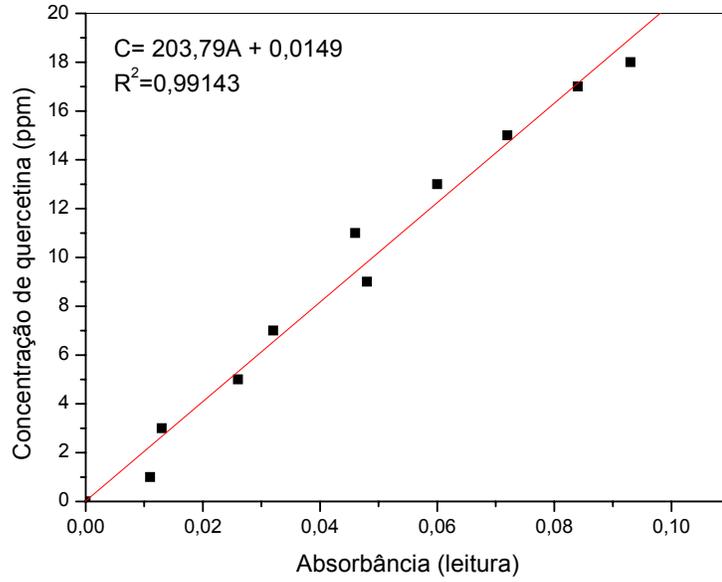


Figura A - Curva de Calibração dos flavonóides.

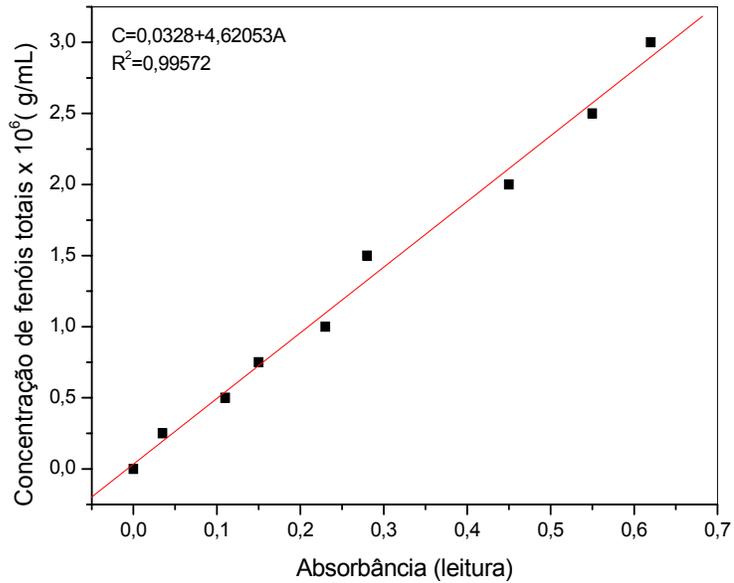


Figura B - Curva de calibração dos fenóis totais.