

UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

JÔFFYLI VANDENBERG MORAIS RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO ORAL COM ATIVIDADE
FARMACOLÓGICA A PARTIR DE EXTRATO DE *Aspidosperma pyrifolium* Mart.**

CAMPINA GRANDE – PB

AGOSTO/ 2015

JÔFFYLI VANDENBERG MORAIS RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO ORAL COM ATIVIDADE
FARMACOLÓGICA A PARTIR DE EXTRATO DE *Aspidosperma pyrifolium* Mart.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba como exigência para obtenção do título de Mestre.

Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE
2015

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

R696d Rodrigues, Jóffyli Vandenberg Morais.
Desenvolvimento de uma solução oral com atividade farmacológica a partir de extrato de *Aspidosperma pyrifolium* Mart [manuscrito] / Jóffyli Vandenberg Morais Rodrigues. - 2015.
95 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2015.

"Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia".

"Co-Orientação: Profa. Dra. Francinalva Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia".

1. Medicamento fitoterápico. 2. Plantas medicinais. 3. Anti-inflamatório. 4. Almgésico. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

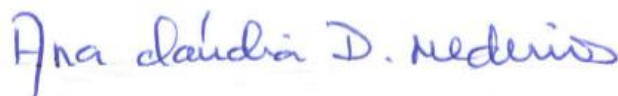
JÔFFYLI VANDENBERG MORAIS RODRIGUES

**DESENVOLVIMENTO DE UMA SOLUÇÃO ORAL COM ATIVIDADE
FARMACOLÓGICA A PARTIR DE EXTRATO DE *Aspidosperma pyrifolium* Mart.**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba como exigência para obtenção do título de Mestre.

Aprovado em 28 de agosto de 2015

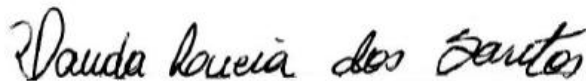
BANCA EXAMINADORA



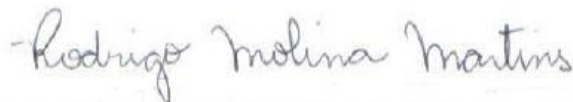
Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Dantas de Medeiros
Orientadora



Prof.^a Dr.^a Francinalva Dantas de Medeiros
Co-orientadora



Profa. Dra. Vanda Lúcia dos Santos
Membro Interno



Prof. Dr. Rodrigo Molina Martins
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

À Deus, por conceder tantas graças, por nos conduzir pelas várias etapas da vida, por me permitir provar de seu amor para conosco através do próximo. Por nos fazer entender que nunca estaremos desamparados. Por saber que Seu amor supera tudo.

Aos meus pais, José Rodrigues Lacerda Neto e Maria do Socorro Moraes de Lacerda. Por serem meus primeiros orientadores. Por me ensinarem valores extintos nas universidades. Por serem meus primeiros amigos, minha igreja doméstica. “Os melhores amigos são aqueles que estão em casa”. Cada etapa concluída na vida é uma conquista que fazemos juntos.

À minha irmã Joyce Vanessa, pela amizade de sempre, por me conhecer como poucos, por me aguentar e me fazer rir e ter raiva com uma forma única. Por acompanhar minha vida acadêmica e compartilhar a sua. Pela confidente que se tornou. “Joy”, muito obrigado.

À minha irmã Luzia Aparecida e meu afilhado Lucas Ruam. Obrigado por estarem sempre conosco, por participarem de cada conquista nossa e por partilharem o crescimento de vocês.

À toda a “Grande Família” paterna e materna. Aos avós, tios e primos, obrigado pela convivência, pelo amor intrínseco demonstrado das mais diversas formas, pela atenção e pela alegria de cada reencontro.

À minha namorada Chrissie Brito pelo apoio, compreensão e paciência. Por me ajudar a buscar ser uma pessoa melhor, por me ensinar valores da vida através de seu testemunho. Obrigado por sua companhia que me faz tão bem. “Eu acertei o pulo quando te encontrei.”

A todos a quem eu, realmente, posso chamar de amigos. Amigos da vizinhança, amigos do Colégio Geo Patos, do Colégio Vera Cruz, amigos de EJC, amigos da Comunidade Católica Shalom, amigos do trabalho, enfim, todos vocês são motivo de alegria para mim. Obrigado pela ajuda nos momentos que necessitei e por poder dividir momentos únicos como esse.

Aos amigos que fiz durante o curso de graduação em Farmácia, todos vocês, cada um de seu jeito, me proporcionou viver amizades prósperas. E como não citar os seis que, junto comigo, entramos nessa aventura chamada mestrado. Natan e Yuri, desde os processos de inscrição,

estivemos juntos nessa luta que no começo já demonstrava que não iria ser fácil. Suellen e Itavyelli, nossa amizade só se fortaleceu e como admiro a aproximação que temos hoje. George e Rayanne, como foi bom estar com vocês por mais tempo e assim estreitar a amizade ainda mais. Além deles, tive a companhia de novos amigos a quem devo muitos agradecimentos. E também, a companhia de outra conterrânea, Airlla Laana, sempre atenciosa com todos e comigo. Sou muito grato por sua amizade.

À minha orientadora querida Ana Cláudia Dantas de Medeiros. Por me aceitar como orientando superando divergências que nós sabemos quais. Obrigado por me incentivar como aluno e como pessoa. Com a sra. aprendi valores extintos por muitos docentes. Além da professora, pude ter a satisfação de conhecer um pouco a mulher de fibra que temos ao nosso meio. A sra. é para mim exemplo de humildade, sinceridade, honestidade, disposição e amor à vida. Parabéns pela pessoa que é. Obrigado pela oportunidade de aprendizado que tive com a sra. e com seu esposo, o Professor José Germano Vêras Neto, exemplo de organização, inteligência e paciência. Ah, obrigado por aguentar minhas besteiras e por rir junto comigo.

A minha co-orientadora Francinalva Dantas de Medeiros. Conterrânea que cativa todos logo de início. Jeito simples e simpático que sabe se colocar nas mais diversas situações. Com inteligência de dimensão semelhante a sua discricção, sabe ajudar a todos sempre que preciso. Obrigado pelos ensinamentos, pelas orientações, pelas correções, chamadas de atenção e momentos de descontração. Desejo-lhe uma carreira próspera e iluminada. Sou muito agradecido pela ajuda que pude receber de você.

Ao Professor Ivan Coelho Dantas (*in memoriam*) por sempre ter sido um professor próximo de seus alunos. Agradeço pela amizade que tivemos e por, mesmo ausente, contribuir com êxito para a realização deste trabalho. Seu apoio foi primordial.

A todos os componentes do Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LABDEM) e do Laboratório de Química Analítica e Quimiometria (LQAQ). Por todo o suporte científico que pude ter com todos vocês que sempre me ajudaram e nunca se recusaram a passar o conhecimento que tinham. Com vocês eu pude crescer como estudante, como pesquisador. Além disso, ganhei amigos novos, aprendi valores novos de companheirismo, de atenção para com o outro e de trabalho em equipe. Com vocês aprendi que aqui se trabalha e se trabalha em equipe. Muito obrigado.

A UEPB, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, a todos os professores e funcionários. Se hoje estamos chegando até aqui foi porque tive a ajuda de muitos.

Aos Professores Zilka Nanes Lima e Harley Alves que deram grande apoio durante o processo de seleção para o trabalho que hoje estamos concluindo. Muito obrigado.

À Professora Mônica Simões e à Farmacêutica Naiana Gondim pelas participações na banca de qualificação, contribuindo com suas correções para com este trabalho.

Aos componentes do Laboratório de Ensaio Farmacológicos da UEPB, do Laboratório de Desenvolvimento e Caracterização de Produtos Farmacêuticos (LDCPF), do Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais (CERTBIO), ao Laboratório de Análises Clínicas da UEPB e à Farmácia Escola da UEPB. Sempre que foi preciso, todos deram o apoio necessário para que essa pesquisa progredisse.

Aos colegas de trabalho que tive na cidade de Água Branca - PB, da cidade de Alagoa Grande - PB e de, atualmente, Patos – PB. Hoje amigos que quero sempre ser grato ao apoio dado, possibilitando que conciliássemos trabalho e estudo. Além de me ajudarem no início de minha profissão com paciência e respaldo às atitudes que tomamos juntos.

Aos amigos que fiz pelos estágios em que passei. Sou grato por todo o apoio dado sempre que foi preciso durante a graduação e os dois anos de mestrado. Obrigado a todos da Farmácia Hospitalar do Hospital João XXIII (Campina Grande – PB) e da Pharmapele Farmácia de Manipulação (Campina Grande – PB).

Às turmas do Curso Técnico em Farmácia do ITEC (Turma 2013.1) e do Colégio Santo Expedito (Patos – PB). Por vocês busco me esforçar para ser um profissional melhor a cada dia. Vocês me ensinaram a dar meus primeiros passos como professor.

Aos meus Professores de 1º e 2º grau. Sem a ajuda de todos vocês na minha formação estudantil, não seria possível estarmos hoje chegando até este nível de conhecimento. Sou grato pelo esforço de vocês para comigo e para com todos seus alunos.

Não tema, crê somente.

(Mc 5,36)

RESUMO

Rodrigues, J. V. M. Desenvolvimento de uma solução oral com atividade farmacológica a partir de extrato de *Aspidosperma pyriforme* Mart. Dissertação de Mestrado. Campina Grande: UEPB, 2015.

Medicamentos fitoterápicos são alternativas aos tratamentos convencionais, frente a diversas patologias. Os extratos de plantas medicinais são insumos ativos de partida para o desenvolvimento desses produtos. A *Aspidosperma pyriforme* Mart. é uma planta característica do semiárido e possui atividade farmacológica, como analgesia e combate à inflamação, devido a sua composição fitoquímica. Assim, o objetivo desse trabalho foi desenvolver uma solução oral a partir do extrato nebulizado de *A. pyriforme* Mart. com atividade anti-inflamatória e analgésica. Foram produzidos três lotes da solução oral: um placebo contendo apenas os excipientes, e outros dois nas concentrações de 12,5 e 25,0 mg.mL⁻¹. Os estudos de pré-formulação deste fitomedicamento foram realizados com o auxílio de métodos termoanalíticos e por análises na região do infravermelho próximo. A atividade farmacológica foi testada por teste de contorções abdominais e peritonite em camundongos. Os percentuais de inibição da dor e de inflamação foram bastante significativos, sendo melhores que o controle positivo em alguns testes utilizando a solução de maior concentração. O controle da qualidade das formulações foi avaliado através dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos, apresentando resultados promissores acerca dos lotes com extrato vegetal. O fitoterápico desenvolvido, além de apresentar bons resultados quanto ao controle da qualidade durante sua produção, comprovou a conservação das propriedades farmacológicas do extrato nebulizado de *A. pyriforme* Mart. destacando-se com êxito nos resultados referentes à atividade analgésica, na qual obteve percentuais de inibição do número de contorções de 70,6% e 89,4% para as soluções de menor e maior concentração, respectivamente, ao passo que a dipirona, controle positivo do teste, apresentou percentual de inibição de 77,65% das contorções.

Palavras-chave: Analgesia, Inflamação, *Aspidosperma pyriforme* Mart., Pré-formulação, Solução oral, Medicamento fitoterápico.

ABSTRACT

Rodrigues, J. V. M. Development of an oral solution with pharmacological activity from *Aspidosperma pyriforme* Mart. extract.

Herbal medicines are alternatives to the pharmaceutical industry ahead the treatment of several diseases and herbal extracts are starting point's assets inputs for the development of these products. The *Aspidosperma pyriforme* Mart. is a characteristic plant of semi-arid and it is able to provide pharmacological activities such as analgesia and anti-inflammation due to its phytochemical composition. The objective of this study was to develop an oral solution from the nebulized extract of *A. pyriforme* Mart. having anti-inflammatory and analgesic activity. Three batches of the oral solution were produced: one with only the excipients used in the formulation, and two others at concentrations of 12.5 and 25.0 mg.mL⁻¹. The pre-formulation studies were performed with this phytomedication the aid of thermoanalytical methods and analysis in the near infrared region. The pharmacological activity was assayed by the writhing test and peritonitis in mice. The percentage inhibition of pain and inflammation were quite significant, being better than the positive control in some tests using the higher concentration solution. The quality control of the formulations was evaluated through physical, chemical and microbiological parameters, the lot of concentration 12.5 mg.mL⁻¹ was following all the parameters. The herbal solution developed submitted good results to quality control during production, proved the conservation of the pharmacological properties of the nebulized extract of *A. pyriforme* Mart. highlighting the successful results of the analgesic activity obtained in the percentage inhibition of writhing numbers of 70.6% and 89.4% for lower and higher concentration solution, respectively, instead of dipyrene, the positive control of the test, submitted the percent inhibition of 77.65% of contortions.

Keywords: Analgesia, Inflammation, *Aspidosperma pyriforme* Mart., Pre-formulation, Oral solution, Herbal medicine.

LISTA DE SIGLAS E SÍMBOLOS

AINEs– Antiinflamatórios não-esteroidais
ANOVA – Análise de Variância
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CertBio– Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais
CEUA – Comitê de Ética em Uso de Animais
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COX – Ciclooxygenase
d.p.– Desvio padrão
DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA – Análise Térmica Diferencial
EDTA – Ácido etilenodiamino tetra-acético
EPN – Extrato da planta nebulizado
FACISA – Faculdades de Ciências Sociais e Aplicadas
FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
g – Grama
IV - Infravermelho
J.g⁻¹– Joules por grama
kg– Quilograma
LABDEM – Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
NIR – Infravermelho Próximo
nm - Nanômetro
PBS – Tampão Fosfato
pH– Potencial Hidrogeniônico
q.s.– quantidade suficiente
q.s.p– Quantidade suficiente para
RDC – Resolução de Diretoria Colegiada
S – South
TG – Termogravimetria
TRPV1 – Receptores Vanilóides Tipo 1
UEPB –Universidade Estadual da Paraíba
UFC – Unidades Formadoras de Colônias

UFC. mL^{-1} – Unidades Formadoras de Colônias vezes mililitro a menos 1

UFCG – Universidade Federal de Campina Grande

UFPB – Universidade Federal da Paraíba

V – número de leucócitos do grupo veículo

W –West

X –número de leucócitos dos grupos teste ou controle positivo

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Excipientes para o estudo da formulação candidata.....	24
Tabela 2 – Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes tamponantes e mistura binária.....	29
Tabela 3 – Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes antioxidantes e mistura binária.....	32
Tabela 4 – Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes conservantes e mistura binária.....	36
Tabela 5 – Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, cossolventes e mistura binária.....	39
Tabela 6 - Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes edulcorantes e mistura binária.....	43
Tabela 7 - Tratamento Supervisionado SIMCA Dados excipientes sólidos (scans = 5).....	50
Tabela 8 - Excipientes utilizados, função e faixa de proporção de massa.....	61
Tabela 9 - Fórmulas finais das soluções oral desenvolvidas.....	65
Tabela 10 - Densidade de cada lote de solução oral produzidos.....	65
Tabela 11 - Volume das amostras do lote de concentração 12,5 mg.mL ⁻¹	66
Tabela 12 – Volume das amostras do lote de concentração 25,0 mg.mL ⁻¹	67
Tabela 13 – Volume médio das amostras do lote de formulação-base.....	67
Tabela 14 – pH das amostras do lote de concentração 12,5 mg.mL ⁻¹	68
Tabela 15 – pH das amostras do lote de concentração 25,0 mg.mL ⁻¹	68
Tabela 16 – pH das amostras do lote de formulação-base.....	68
Tabela 17 – Contagem de UFC de bactérias do lote 12,5 mg.mL ⁻¹	69
Tabela 18 – Contagem de UFC de bactérias do lote 25,0 mg.mL ⁻¹	69
Tabela 19 – Contagem de UFC de bactérias do lote de solução oral base.....	70
Tabela 20 – Contagem de UFC de fungos do lote 12,5 mg.mL ⁻¹	70
Tabela 21 — Contagem de UFC de fungos do lote 25,0 mg.mL ⁻¹	71
Tabela 22 – Contagem de UFC de fungos do lote de solução oral base.....	71
Tabela 23 – Efeito antinociceptivo das formulações de <i>A. pyrifolium</i> Mart. sobre o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.....	85
Tabela 24 – Efeito antiqumiotático das formulações de <i>A. pyrifolium</i> Mart. sobre o número de leucócitos totais no exsudato da peritonite induzida pela carragenina.....	88

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Foto ilustrativa de uma árvore de <i>Aspidosperma pyriforme</i> Mart.....	5
Figura 2 – Curvas de TG (A) e DSC (B) do extrato de <i>A.pyriforme</i> Mart.....	26
Figura 3 –Curvas TG e DSC do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., agentes tamponantes e misturas binárias (1:1).....	28
Figura 4 – Curvas de TG e DSC do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart. antioxidantes e misturas binárias (1:1).....	31
Figura 5 – Curvas de TG e DSC do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., conservantes e misturas binárias (1:1).....	35
Figura 6 – Curvas de TG e DSC do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., cossolventes e misturas binárias (1:1).....	37
Figura 7 –Curvas de TG e DSC do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., edulcorantes e misturas binárias (1:1).....	42
Figura 8 –Espectro em NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart. nebulizado.....	45
Figura 9 – Espectros de NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., agentes tamponantes e mistura binária (1:1).....	45
Figura 10 – Espectros de NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart., agentes oxidantes e mistura binária (1:1).....	46
Figura 11 –Espectros de NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart.,agentes conservantes e misturas binárias (1:1)	47
Figura 12 – Espectros de NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart.,agentes edulcorantes e misturas binárias (1:1).....	48
Figura 13 –Teste de solubilidade para os cossolventes.....	51
Figura 14 – Espectrosde NIR do extrato de <i>A. pyriforme</i> Mart.,agentes cossolventes e misturas binárias (1:1).....	52
Figura 15 –Gráfico PCA dos excipientes líquidos e EPN.....	53
Figura 16 – Efeito antinociceptivo das formulações de <i>A. pyriforme</i> Mart. sobre o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético.....	86
Figura 17 – Efeito antiqumiotático das formulações de <i>A. pyriforme</i> Mart.sobre o número de leucócitos totais no exsudato da peritonite induzida pela carragenina.....	89

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo Geral	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	4
3.1 Plantas Medicinais e Fitoterapia	4
3.2 <i>Aspidosperma pyriforme</i> Mart.....	5
3.3 Obtenção de Extratos Nebulizados.....	6
3.4 Estudos de Pré-Formulação	7
3.4.1 Análise Térmica	8
3.4.2 Infravermelho Próximo (NIR)	8
3.5 Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas Líquidas.....	9
3.6 Controle de Qualidade de Medicamentos.....	10
3.7 Ensaios Farmacológicos	11
3.7.1 Atividade Antinociceptiva	11
3.7.1.1 Nocicepção	11
3.7.1.2 Formalina	11
3.7.1.3 Contorções por Ácido Acético	12
3.7.2 Atividade Antiinflamatória.....	12
3.7.2.1 Inflamação	12
3.7.2.2 Peritonite	13
3.7.2.3 Edema de Pata	13
4. REFERÊNCIAS	14
CAPÍTULO 1 Estudo de uma formulação candidata a solução oral realizada entre excipientes farmacêuticos e extrato de <i>Aspidosperma pyriforme</i> Mart.....	20
RESUMO	20
ABSTRACT	21
1. INTRODUÇÃO	22
2. EXPERIMENTAL	23
2.1 Material Vegetal e Extrato Seco.....	23

2.2 Misturas Binárias.....	23
2.3 Análise Térmica.....	24
2.4 Infravermelho Próximo (NIR).....	24
3.RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
4. CONCLUSÃO.....	54
5. REFERÊNCIAS.....	55

CAPÍTULO 2 Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Solução Oral à base de extrato nebulizado de <i>Aspidosperma pyriforme</i> Mart.	58
--	-----------

RESUMO.....	58
--------------------	-----------

ABSTRACT.....	59
----------------------	-----------

1. INTRODUÇÃO.....	60
---------------------------	-----------

2. EXPERIMENTAL.....	61
-----------------------------	-----------

2.1 Obtenção do Material Vegetal e Excipientes.....	61
---	----

2.2 Desenvolvimento da solução oral	61
---	----

2.3 Controle da Qualidade da Solução Oral Desenvolvida.....	62
---	----

2.3.1 Controle da Qualidade Físico-químico	62
--	----

2.3.1.1 Determinação da Densidade do Extrato Nebulizado	63
---	----

2.3.1.2 Determinação da Densidade da Formulação	63
---	----

2.3.1.3 Determinação do Volume Médio	63
--	----

2.3.1.4 Determinação do pH	63
----------------------------------	----

2.3.2 Controle da Qualidade Microbiológico	64
--	----

2.3.2.1 Contagem do Número Total de Microrganismos para Formas Não-estéreis..	64
---	----

2.4 Análise Estatística	64
-------------------------------	----

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
---------------------------------------	-----------

4. CONCLUSÃO	73
---------------------------	-----------

5. REFERÊNCIAS.....	74
----------------------------	-----------

CAPITULO 3 Avaliação da Atividade Farmacológica da Solução Oral desenvolvida a partir do extrato nebulizado de <i>Aspidosperma pyriforme</i>	76
---	-----------

RESUMO.....	76
--------------------	-----------

ABSTRACT.....	77
----------------------	-----------

1. INTRODUÇÃO.....	78
---------------------------	-----------

2. EXPERIMENTAL	79
2.1 Solução Oral Teste.....	79
2.2 Animais	79
2.3 Avaliação da Atividade Antinociceptiva	79
2.3.1 Contorções Abdominais Induzidas por Ácido Acético	83
2.4 Avaliação da atividade antiinflamatória	84
2.4.1 Teste de peritonite	84
2.5 Análise estatística	84
3. RESULTADOSE DISCUSSÃO	85
4. CONCLUSÃO	90
5. REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO

O conhecimento da medicina popular associado ao uso de plantas medicinais tem importância fundamental no desenvolvimento de novos medicamentos. Isso pode ser uma alternativa viável, pois boa parte dessas espécies, além de apresentarem algum tipo de atividade medicinal, tem grandes chances de apresentar baixa toxicidade, baixo custo e fácil acesso (COSTA et al, 2008).

O mercado de produtos fitoterápicos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, movimentando mundialmente, em 2011, US\$ 26 bilhões, sendo os principais medicamentos desenvolvidos os anti-inflamatórios, para o sistema nervoso central, para problemas respiratórios e digestivos (BRESOLIN et al., 2010; ALVES, 2013).

Agências regulatórias brasileiras criaram diversas resoluções e portarias visando à padronização e normatização do setor. Dentre elas, destacam-se a RDC n° 10 (BRASIL, 2010), na qual se encontra uma lista com mais de 60 plantas medicinais que podem ser usadas na forma de infusão (chás), e a RDC n° 14 (BRASIL, 2013) que normatiza o registro de fitoterápicos (CARVALHO, 2011; ZOLLNER; SCHWARZ, 2013).

Embora muitos medicamentos disponíveis no mercado tenham sido produzidos direto ou indiretamente a partir de produtos naturais, o consumo de plantas medicinais *in natura*, e na forma de chás, ocupa uma posição de destaque, principalmente em países em desenvolvimento onde os serviços de saúde são muitas vezes limitados. Fato é que plantas medicinais, como também, medicamentos fitoterápicos, tem se mostrado uma alternativa segura, efetiva e econômica, e estão ganhando popularidade (AGRA, 2007).

Atualmente, o Brasil detém cerca de um terço da biodiversidade mundial, porém, no âmbito das pesquisas com finalidade medicamentosa, seu avanço é modesto, destacando-se como fornecedor de matéria-prima e comprador de medicamentos manufaturados (KLEIN, 2009). As pesquisas existentes encontram-se centralizadas nas universidades, mas são ações que não chegam, em sua maioria, até à obtenção do produto final.

Partindo de estudo Etnofarmacobotânico percebe-se que diversas plantas possuem ação analgésica e anti-inflamatória. Dentre estas, destaca-se a *Aspidosperma pyriforme* Mart., planta com potencial de gerar um fitoterápico com boa atividade farmacológica devido aos compostos fitoquímicos presentes em sua composição (SILVA et al, 2011). As plantas podem ser um bom meio de obtenção de produtos medicinais, mas para isto, torna-se preciso investir em pesquisas como intuito de proporcionar o surgimento de novos medicamentos.

A *Aspidosperma pyrifolium* Mart. é uma árvore originária do Brasil, pertencente à família Apocynaceae. Conhecida popularmente como pereiro, peroba-rosa, trevo, entre outros. É utilizada, medicinalmente, por suas propriedades anti-inflamatórias, depurativas, antidisentéricas, bactericida, antissépticas e para problemas do fígado, na forma de macerato (casca) ou decocto (casca). Possui dentre seus fitoconstituintes alcalóides, taninos, fenóis, flavonoides, xantonas, resinas e albumina (DANTAS, 2007). De acordo com o conhecimento popular, esta planta é utilizada com finalidades analgésicas, como em casos de dores de estômago, distúrbios respiratórios, cólicas, êmese, febres, problemas cardíacos, urinários e dermatológicos (ALBUQUERQUE et al, 2007; SANTOS, 2010).

A fitoterapia e o uso de plantas medicinais, por parte da medicina popular, se mostram como uma alternativa eficaz para o tratamento de várias patologias. Com os avanços científicos é possível a produção de fitoterápicos seguros e eficazes, além de proporcionar terapias menos agressivas à população. O uso da fitoterapia deve ser feita sob orientação para evitar perdas na efetividade dos princípios ativos vegetais e não haver riscos na realização de um tratamento fitoterápico (BRUNING et al., 2012).

Para o desenvolvimento das formas farmacêuticas, é necessário o conhecimento das características físicas, químicas, físico-químicas e biológicas de todos os fármacos e das matérias-primas empregadas na elaboração do produto, assim como, a anatomia fisiológica do local de administração e absorção. Além disso, alguns autores enfatizam a importância do estudo de compatibilidade entre os fármacos e excipientes, com a finalidade de se originar produtos mais estáveis e com biodisponibilidade adequada (ALLEN JR et al., 2007).

Ante o que foi exposto, este trabalho objetivou desenvolver uma solução oral com extrato de *A. pyrifolium* com atividades analgésicas e anti-inflamatórias.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral:

Desenvolver uma solução oral com atividade analgésica e anti-inflamatória, a partir de extrato de *Aspidosperma pyriformium* Mart.

2.2 Objetivos Específicos:

- Obter o extrato nebulizado de *Aspidosperma pyriformium* Mart., com estabilizante farmacotécnico;
- Caracterizar o extrato nebulizado por meio de técnicas termoanalíticas e por infravermelho próximo (NIR);
- Realizar um estudo de pré-formulação entre o extrato nebulizado e excipientes farmacêuticos;
- Desenvolver uma solução oral, a partir do extrato nebulizado de *A. pyriformium* Mart.;
- Analisar os parâmetros microbiológico e físico-químico da solução desenvolvida;
- Avaliar atividade analgésica e anti-inflamatória da solução desenvolvida.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1 Plantas Medicinais e Fitoterapia

O uso de plantas medicinais no Brasil é bastante difundido, visto que é um país em destaque por apresentar grande número de espécies vegetais nativas de cunho medicinal. Porém, há o uso em larga escala de tais plantas de modo empírico, sem um conhecimento do verdadeiro potencial terapêutico e conseqüentemente uma adequada avaliação científica (ARAUJO et al., 2009; COSTA et al., 2009). Os conhecimentos empíricos foram adquiridos e transmitidos por meio, principalmente, dos indígenas, assim como, por imigrantes de diversas origens (CARELLI et al., 2011).

O uso de plantas medicinais ou de fitoterápicos torna-se uma alternativa terapêutica para as práticas convencionais e quando estas não são capazes de suprir todas as necessidades medicamentosas da população (LIMA, L. L. et al., 2013).

A Fitoterapia se refere às tradições populares de tratamento, onde as plantas medicinais são usadas como medicamentos (ALMEIDA et al., 2008). A Fitoterapia se baseia na alopátia, onde, são usados preparados tradicionais elaborados de plantas medicinais, eficazes, padronizados, com inocuidade e qualidade controlada, não contendo substâncias quimicamente definidas, isoladas, purificadas e de estrutura molecular determinada (ARAUJO et al., 2009). Os medicamentos fitoterápicos são preparações farmacêuticas (extratos, tinturas, pomadas, cápsulas, etc.) compostas por uma ou mais plantas e utilizados para o tratamento de várias patologias (SOARES et al., 2008).

Os altos custos e efeitos adversos dos medicamentos tradicionais foram motivos que incentivaram o uso dos fitoterápicos como medicamento e não apenas como complemento a outra terapia. Com isso, elevou-se o patamar desses produtos no cenário mundial, especialmente em países como Estados Unidos, Japão e países da Europa, com destaque a Alemanha e França (KLEIN, 2009).

Por existir principalmente no mercado informal, a Fitoterapia acaba representando um risco à saúde da população, pois sua comercialização ocorre desconsiderando os parâmetros da qualidade, desde a identificação até a pureza do vegetal. Por se tratar de um grande risco a saúde é indiscutível a necessidade de um controle de qualidade maior e melhor, para que assim a fitoterapia não seja apenas uma alternativa medicinal economicamente viável à população, mais também um medicamento de qualidade confiável (CORDEIRO et al., 2006).

O interesse pelas plantas medicinais é ascendente devido à busca pela cura e controle de diversas patologias, e um dos fatores relevantes deste aumento é a procura significativa por novas substâncias que substituam os medicamentos usados e pelo fato de muitos não apresentarem a eficácia desejada. (CARELLI et al., 2011).

3.2 *Aspidosperma pyrifolium* Mart.

Planta cujo gênero é pertencente ao reino Plantae, divisão Magnoliophyta, classe Magnoliopsida, subclasse Asteridae, ordem Gentianales, família Apocynaceae (BARCHUK et al., 1999).

O gênero apresenta espécies arbóreas de grande porte, com copas amplas e folhagem alternada, grande número de flores e sementes, podendo haver a presença de látex nos ramos. Está presente, em sua maioria, na América do Sul, em regiões como o Cerrado, Caatinga e algumas florestas (ALZUGARAY et al., 2007).

Figura 1 – *Aspidosperma pyrifolium* Mart.



Fonte: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>

É uma espécie popularmente conhecida como Pereiro, Pau-pereiro, Pereira-branca, Pereiro-branco, Pereiro-de-saia, Pereiro-preto, Pereiro-vermelho, Peroba-paulista, Peroba-rosa e Trevo (figura 1). É uma planta utilizada também em processos de recuperação de mata ciliar, como madeira e como forragem (SANTOS, et al. 2009).

Através de pesquisa realizada em fazendas no Seridó Ocidental e Seridó Oriental no Estado do Rio Grande do Norte, foi verificado que essa espécie, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., é comumente utilizada no tratamento de doenças estomacais de caprinos, ovinos e

bovinos. Porém, é causadora de abortos em tais animais. Essas atividades relacionam-se diretamente aos compostos orgânicos presentes em sua composição (SILVA et al., 2011).

Quanto ao risco abortivo, foi verificado em estudo que animais caprinos intoxicados espontaneamente por *A. pyrifolium* apresentaram perda do feto. Outros estudos demonstraram que ratas prenhas apresentaram perda de peso fetal e evidências de toxicidade materna, após a submissão ao extrato da planta (LIMA e SOTO-BLANCO, 2010).

Métodos fitoquímicos clássicos realizados em extratos botânicos para detenção de constituintes químicos, mostraram que *A. pyrifolium* contém alcalóides e taninos. A ocorrência de estruturas alcalóidicas é característica da família Apocynaceae. Na região de Juazeiro do Norte (CE), essa planta é utilizada na terapêutica para o tratamento de inflamações do trato urinário e dermatite, devido aos flavonoides presentes na casca (SILVA et al., 2011).

3.3 Obtenção de Extratos Nebulizados

Por definição, extratos secos são preparações sólidas, pulverulentas ou granuladas, obtidas por evaporação de extratos de plantas medicinais adicionadas ou não de adjuvantes, apresentando o teor de substâncias ativas indicado na respectiva monografia (BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Extratos vegetais secos por aspersão têm sido utilizados como produtos finais e intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas. Apesar dos extratos fluidos serem mais comumente comercializados, é preciso retirar parte do líquido extrator para a preparação das formulações sólidas, semissólidas ou líquidas. A eliminação do solvente deve ser realizada corretamente no intuito de evitar perda dos constituintes químicos do extrato (JÚNIOR et al., 2006).

O extrato seco é considerado tecnologicamente viável para fins de produção em larga escala, devido à estabilidade física, química e microbiológica, além da facilidade de padronização dos princípios ativos. Na indústria farmacêutica de fitoterápicos, o extrato seco é aplicado na preparação de comprimidos, cápsulas, granulados, pomadas e outras formas farmacêuticas, como produto intermediário. Entre outras vantagens, apresentam maior estabilidade e distribuição granulométrica dos constituintes da preparação. A adição de adjuvantes à solução extrativa melhora o rendimento e características farmacotécnicas do pó obtido (SILVA et al., 2012).

O princípio básico da nebulização é a maximização da área de troca de calor e massa durante a secagem, sua eficácia está baseada no princípio do aumento de área de contato entre o material a ser seco e o agente dessecante, ou seja, o ar quente. É uma técnica vantajosa devido a baixa degradação, alteração de nutrientes, aroma, sabor, cor entre outros; sua alta produtividade e capacidade; efetivo controle das variáveis; alta eficiência energética; produz materiais diretamente na forma de pó, com forma, tamanho e densidade controlados pelas condições de processo e capacidade de microencapsulação de fármacos (JUNQUEIRA, et al., 2010).

A qualidade do pó obtido é baseada em uma série de propriedades dependentes das variáveis de processo utilizadas, em geral, o conteúdo de umidade final, o índice de solubilidade e a densidade aparente são de fundamental importância. Uma vantagem do processo *spray drying* é que a secagem isenta de contaminação de germes patogênicos evitando possíveis contaminações durante o processamento, podendo-se assumir que a contaminação bacteriana final procede essencialmente da planta original, ou após o processamento, pela manipulação humana (SILVA, et al. 2012).

Outra vantagem desse processo é a associação de pressão reduzida a temperaturas que variam entre 30-120 °C, ocorrendo um breve contato entre o aquecimento e o extrato a ser seco, o que permite a secagem sem alterações expressivas, permitindo a obtenção de extrato para uso em escala industrial, e com grande reprodutibilidade (JUNQUEIRA et al., 2010).

3.4 Estudos de Pré-formulação

No processo de produção de um medicamento, devem ser realizados estudos prévios visando investigar desde a comprovação farmacológica até a elaboração da forma farmacêutica final. O estudo de pré-formulação é empregado com o intuito de prevenir problemas relacionados com a interação fármaco-excipiente, problemas na estabilidade da formulação e desvios de qualidade relacionados ao processo de fabricação. Tal etapa tem a finalidade de permitir a detecção de mudanças químicas ou físicas nos compostos de uma formulação, mesmo em níveis muito baixos (BORCHARDT, 1998; KIRTANSINH et al., 2011).

O estudo de pré-formulação é composto por diferentes etapas, como, caracterização do ingrediente ativo (solubilidade, pKa, coeficiente de partição), estudos de compatibilidade, e estudos de estabilidade do medicamento final (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001).

Nesta fase do desenvolvimento farmacotécnico é fundamental a avaliação da compatibilidade entre ativo e excipientes, isto porque interações podem afetar a natureza química da composição e conseqüentemente sua segurança e eficácia. Assim, as técnicas termoanalíticas são largamente utilizadas nesses estudos por possibilitarem a aquisição rápida de informações que indiquem a ocorrência de incompatibilidades entre os componentes de uma formulação (TITA et al., 2011). No entanto, outras técnicas podem ainda serem utilizadas, como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a difração de raios X (DRX), as quais em conjunto permitem uma melhor tomada de decisão no que se refere à escolha de excipientes (CHAVES et al., 2009; FERNANDES et al., 2012; AIGNER et al., 2012).

3.4.1 Análise Térmica

A análise térmica compreende um grupo de técnicas analíticas, no qual uma determinada propriedade física de uma amostra é medida em função da temperatura ou do tempo, enquanto submetida a um programa controlado de temperatura, sob uma atmosfera específica. As mais comumente utilizadas são termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) (SILVA, PAOLA e MATOS, 2007). Essas técnicas termoanalíticas são utilizadas para pesquisas nas mais diversas áreas, sendo aplicados no desenvolvimento de polímeros, cerâmicas, fármacos, alimentos, entre outros (OSAWA, 2000).

No âmbito farmacêutico, as técnicas termoanalíticas são de grande utilidade para a caracterização de polimorfismo, umidade, pureza, estabilidade e cinética de degradação (OLIVEIRA et al., 2011). Também é utilizado na padronização e caracterização de extratos nebulizados, conforme foi demonstrado por diversos autores (ARAGÃO et al., 2002; SILVA JÚNIOR et al., 2006; MEDEIROS, MEDEIROS e MACÊDO, 2002;). Além disso, podem ser instrumento para avaliação de estabilidade e incompatibilidades entre componentes de uma mesma formulação fitoterápica (MEDEIROS; MEDEIROS; MACÊDO, 2002).

3.4.2 Infravermelho Próximo (NIR)

A espectroscopia na região do infravermelho é definida como a medida de absorção, por parte dos compostos químicos analisados, de uma radiação eletromagnética em que o comprimento de onda se situa na faixa de 10^{-4} a 10^{-2} cm. Esse tipo de espectroscopia usa a

região do infravermelho do espectro eletromagnético. É uma técnica que pode ser utilizada para identificação de compostos ou investigação de sua composição (COSTA, 2010).

Infravermelho próximo (NIR – *near infrared*) é o nome dado à região do espectro eletromagnético imediatamente superior à região visível em termos de comprimento de onda, ou seja, trata-se da região do infravermelho “mais próxima” da região visível (LIMA e BAKKER, 2011).

Métodos analíticos baseados em espectroscopia na região do infravermelho próximo possuem as características de serem rápidos, não destrutivos e de aplicação quase universal, demandando de pré-tratamento mínimo da amostra (FERREIRA, 2006).

O espectro no infravermelho de um composto é considerado uma de suas propriedades mais características. Sendo assim, é possível a avaliação e caracterização de matérias-primas e formulações, como também seus estudos de pré-formulação e desenvolvimento, avaliando as propriedades físicas e químicas dos compostos envolvidos (CAMELO, 2010).

3.5 Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas Líquidas

As formas farmacêuticas líquidas, de uso oral, juntamente com os comprimidos e cápsulas, são as mais aceitas pelos pacientes para administração de fármacos destinados ao uso sistêmico. Apresentam boa biodisponibilidade e são as principais formas para a administração em crianças, lactentes e idosos, com dificuldade de deglutição, ou pacientes que não podem utilizar formas farmacêuticas sólidas pelo comprometimento da via oral (LUBI, 2002).

No desenvolvimento de formulações líquidas o fármaco deve estar dissolvido ou no máximo, disperso no excipiente, e as formulações apresentando sabor agradável (LUBI, 2002).

A solubilidade do fármaco pode ser considerada o principal fator relacionado às características físico-químicas, que influenciam a biodisponibilidade de medicamentos. A dissolução do fármaco é um pré-requisito para absorção e conseqüente resposta clínica da maioria dos fármacos apresentados, em formas farmacêuticas administradas por via oral (AMIDON et al., 1995).

As soluções são formas farmacêuticas de escolha quando uma absorção rápida e completa é exigida. Para esta forma farmacêutica, a biodisponibilidade de fármacos pode ser afetada por alguns fatores, como estabilidade do fármaco nos líquidos do TGI, formação de

complexo entre fármaco e algum excipiente ou a incorporação do fármaco em micelas (AULTON, 2005).

Neste contexto, a busca por medicamentos mais seguros e eficazes passou a ser prioridade de diversos institutos e centros de pesquisas. O desenvolvimento de fitomedicamentos reflete consideravelmente esse aspecto, principalmente nos avanços metodológicos relacionados à identificação, isolamento, caracterização, além dos aspectos farmacológicos e toxicológicos de novos ingredientes ativos (ALVES, 2013).

3.6 Controle de Qualidade de Medicamentos

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), o controle da qualidade, ferramenta de avaliação dos aspectos físico-químicos e microbiológicos, é o conjunto de medidas destinadas a garantir, a qualquer momento, a produção de lotes de medicamentos e demais produtos, que satisfaçam às normas de identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade.

Os medicamentos fitoterápicos apresentam em seu desenvolvimento várias etapas de processamento, procedimentos tomados desde a coleta do material vegetal, até a formulação do produto final. A qualidade desta dependerá do cumprimento dos critérios de qualidade estabelecidos para cada etapa. Desta forma, a Farmacopeia Brasileira estabelece monografias com testes analíticos de controle da qualidade para diversas plantas (SOUZA et al., 2010).

Os testes analíticos que fazem parte do controle da qualidade têm por função principal, averiguar e comprovar que tanto os produtos envolvidos em uma formulação, quanto à própria formulação finalizada apresentam os parâmetros de qualidade pré-estabelecidos (BRASIL, 2008). Dentre os testes analíticos estão envolvidos ensaios organolépticos e físico-químicos.

Os ensaios organolépticos avaliam as características gerais dos produtos, tais como cor, odor, aspecto, sabor e tato, os quais são avaliados pelos órgãos de sentido dos profissionais que executam os ensaios. Estes ensaios podem detectar algumas alterações visuais que possam ocorrer nas formulações, como turvação, separação de fases e precipitação de algum componente (BRASIL, 2008; BRASIL, 2010;FRANCIO et al., 2013).

Os ensaios físico-químicos revelam características dos produtos que não podem ser determinados pelos órgãos de sentidos, por isso é necessário o uso de equipamentos específicos. Por sua vez, estes equipamentos devem estar calibrados para que possam fornecer resultados válidos referentes ao ensaio realizado. Entre estes ensaios podem ser citados: determinação do pH, densidade, viscosidade, resíduo seco, teor de cinzas, condutividade,

índice de espuma, estabilidade preliminar, espalhabilidade, variando de acordo com a forma farmacêutica que está sendo analisada (BRASIL, 2008; BRASIL, 2010; FRANCIOSI et al., 2013). Os parâmetros mínimos de qualidade que devem ser atendidos pelas formulações líquidas produzidas a partir de insumo ativo vegetal, estão presentes na Farmacopeia Brasileira.

3.7 Ensaios Farmacológicos

3.7.1 Atividade Antinociceptiva

3.7.1.1 Nocicepção

A dor é caracterizada por experiências sensoriais e emocionais, podendo ser crônica ou aguda. A percepção de dor é entendida como um mecanismo de proteção, no qual o corpo inibe comportamentos que levem a uma injúria maior (KLAUMANN et al., 2008; CORTES et al., 2013).

O componente sensorial permite, por meio da ativação de receptores, a transmissão e interpretação do estímulo nocivo e corresponde ao mecanismo neurofisiológico. O componente emocional corresponde à percepção do estímulo pelo indivíduo que é seguida pela tomada de consciência e reação da dor (CARVALHO, 2011).

A nocicepção refere-se às manifestações neurofisiológicas geradas pelo estímulo nocivo, é um processo de características fisiológicas envolvendo estruturas neurais, codificando e processando o estímulo nocivo (LOESER; TREEDE, 2008).

A nocicepção pode ser avaliada por testes como a indução de nocicepção por formalina, teste da placa quente, teste de Randall-Selitto, teste de Von-Frey, dor orofacial induzida por formalina, teste da placa quente e da retirada de cauda (SILVA et al., 2013).

3.7.1.2 Formalina

O teste de indução da nocicepção por formalina é dividido em duas fases. A fase I (cinco primeiros minutos) avalia a resposta à estimulação química nociceptiva e a fase II (compreendida entre o décimo quinto e trigésimo minutos) avalia a influência da ação inflamatória na resposta dolorosa. É realizada a contagem de vezes que o animal tem reações

como o erguimento da pata que recebeu formalina, lambeduras e atos de sacudir a pata demonstrando percepção da dor (CARVALHO et al., 2011).

3.7.1.3 Teste de Contorções por Ácido Acético

O teste de contorções consiste na resposta à injeção peritoneal de um agente nocivo em que o rato ou camundongo desenvolve um comportamento que consiste em uma onda de constrição e alongamento prosseguindo ao longo da parede abdominal que pode ser acompanhada de torção do tronco e extensão dos membros posteriores (COLLIER, 1968; Dos ANJOS et al., 2008).

No referido teste, há a administração de substâncias testes e controles negativos e positivos com aplicação subsequente do ácido acético via intraperitoneal, tal ácido é o indutor das contorções. Soma-se o número de contorções realizadas pelo animal durante trinta minutos (FLORENTINO et al. 2013).

3.7.2 Atividade Anti-inflamatória

3.7.2.1 Inflamação

Os processos inflamatórios consistem em uma reação de defesa do organismo frente a uma agressão que pode vir de agentes físicos, químicos e/ou biológicos (infecções em geral); sendo caracterizados inicialmente por sintomas como calor, eritema, edema, hipersensibilidade e dor, podendo evoluir para a perda da função da região afetada (SILVA e MACEDO, 2011).

Entretanto, em muitos casos, tanto a inflamação quanto a dor podem se tornar exacerbadas, e conseqüentemente prejudiciais, necessitando da utilização de substâncias anti-inflamatórias, que podem ser do tipo esteroidais (glicocorticoides) ou não-esteroidais (AINES), ou analgésicas. Os AINESs caracterizam-se por inibir a atividade de subtipos da ciclooxigenase (COX 1 e 2), impedindo a síntese de prostaglandinas pela via metabólica da cascata do ácido araquidônico. Enquanto que os glicocorticoides atuam promovendo ação supressora sobre a ciclooxigenase 2, além de induzirem a produção de anexinas que atuam modulando a função fosfolipase A2. Por outro lado, os analgésicos podem atuar inibindo processos inflamatórios e conseqüentemente a dor advinda destes, agir diretamente em receptores do sistema nervoso central ou mesmo inibindo a liberação de neurotransmissores,

todos esses processos resultando na redução ou eliminação da dor. Dentre os compostos fitoterápicos, os flavonoides destacam-se por sua capacidade anti-inflamatória (IWALEWA et al. 2007; BRUNTON, 2012; SAHA et al. 2013).

Na avaliação da atividade anti-inflamatória, podem ser destacados os testes de peritonite, edema de pata induzido por carragenina, dextrano, histamina, serotonina e bradicinina (WINTER et al., 1962; HENRIQUES et al., 1987; PARRAT e WEST, 1958).

3.7.2.2 Peritonite

O teste de peritonite é um ensaio que avalia o potencial que compostos possuem de inibir a resposta inflamatória na região peritoneal, quando esta é submetida à ação de agentes irritantes como a carragenina. O exsudato intraperitoneal do animal é colhido e analisado após a administração das substâncias testes, controles e carragenina. Os leucócitos presentes no exsudato são quantificados sendo, posteriormente, avaliada a inibição a resposta inflamatória (BARROS et al., 2004).

3.7.2.3 Edema de Pata

O teste de edema de pata avalia o potencial que os compostos possuem de inibir a resposta inflamatória (antiedematogênica) na região subplantar, quando submetida à ação da carragenina (agente flogístico). Há a medição do volume das patas (esquerda com salina e direita com carragenina) com auxílio de pletismômetro ou de paquímetro. A ação anti-inflamatória será maior, quanto menor for diferença entre o volume da pata esquerda e da direita de cada animal (SANTOS, 2011; LIMA, L. R. et al. 2013).

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; FILHO, J. B. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 17. p. 114- 140. Mar, 2007.
- AIGNER, Z.; BERKESI, O.; FARKAS, SZAVÓ-RÉVÉZS, P. DSC, X-ray and FTIR studies of a gemfibrozil/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex produced by co-grinding. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 57, p. 62-67 2012.
- ALBUQUERQUE, U. P.; MEDEIROS, P. M.; ALMEIDA, A. L. S.; MONTEIRO, J. M. M.; NETO, E. M. F. L.; MELO, J. G.; SANTOS, J. P. Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. *Journal of Ethnopharmacology*. Ed. 114.; p. 325-354. 2007.
- ALLEN Jr., L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. *Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos*. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- ALMEIDA R. B. A.; CARRETTO, C. F. P.; SANTANA, R. S.; FURLAN, M. R.; JUNQUEIRA, J. C.; JORGE, A. O. C. Atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus* (DC.) sobre *Candida* spp. *Revista de Odontologia da UNESP*, n.37, v.2, p. 147-153, 2008.
- ALVES, L.F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, problemas e perspectivas. *Revista Virtual de Química*, v.5, n.3, p.450-513, 2013.
- ALZUGARAY, C.; CARNEVALE, N. J.; SALINAS, A. R.; PIOLI, R. Factores bióticos y abióticos que afectan la localización de las semillas de *Shinopsis balansae* Engl. y *Aspidosperma quebracho-blanco* Schl. *Revista Iberoamericana de Micología*. V. 24, n. 1, p.142 – 147, 2007.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J.R.A Theoretical basis for a pharmaceutical drug classification: the correlation in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*, 1995; v.12, n.3, p. 413-420.
- ARAGÃO, C. F. S.; SOUZA, F. S.; BARROS, A. C. S.; VERAS, J. W. E.; BARBOSA FILHO, J. M.; MACEDO, R. O. Application of thermogravimetry (TG) in quality control of milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 12, p. 60-61, 2002.
- ARAÚJO, C. R. F.; PEREIRA, J. V.; PEREIRA, M. S. V.; ALVES, P. M.; HIGINO, J. S.; MARTINS, A. B. Concentração Mínima Bactericida do Extrato do Cajueiro sobre Bactérias do Biofilme Dental. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, v.9, n.2, p.187-191, 2009.
- AULTON, M.E. *Delineamento de Formas Farmacêuticas*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- BARCHUK, A. H.; DÍAZ, M. P. Regeneration and structure of *Aspidosperma quebracho-blanco* Schl. In the Arid Chaco (Córdoba, Argentina). *Forest Ecology and Management*, v. 118, n.1; p. 31-36, 1999.
- BARROS, F.E.V.; SOUSA, M.G.T.; COSTA, J.L.; OLEA, R.S.G.; FREIRE, S.M.F.; BORGES, A.C.R.; BORGES, M.O.R. Avaliação das atividades analgésica e anti-inflamatória

do extrato metanólico de *Calotropis procera*, R. Br. (ciúme). *Infarma*, v.16, n.9-10, p.60-64, 2004.

BORCHARDT, R. T. Value of Pharmaceutical Sciences. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 16, p. 1387-1401, 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Segunda edição, Brasília, 120 p., 2008.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. 5 ed. Brasília, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO – RDC Nº10, de 9 de Março de 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RESOLUÇÃO – RDC Nº14, de 14 de Março de 2013.

BRESOLIN, T.M.B.; CECHINEI FILHO, V. *Fármacos e Medicamentos: Uma abordagem multidisciplinar*. São Paulo: Santos, 2010.

BRUNING, M. C. R.; MOSEGUI, G. B. G.; VIANNA, C. M. M. A utilização da fitoterapia e de plantas medicinais em unidades básicas de saúde nos municípios de Cascavele Foz do Iguaçu – Paraná: a visão dos profissionais de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.17(10); p. 2675-2685, 2012.

BRUNTON L.L. *Goodman & Gilman - As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2012.

CAMELO, S. R. P. Estudos de Pré-formulação e Formulação de *Vismia guianensis* (Aubl.) Choisy. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Pará. Belém, 2010.

CARELLI, G.; MACEDO, S. M. D.; VALDUGA, A. T.; CORAZZA, M. L.; OLIVEIRA, J. V.; FRANCESCHI, E.; VIDAL, R.; JASKULSKI, M. R. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO₂ supercrítico. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.13, n.1, p.110-115, 2011.

CARVALHO, A. M. R. Estudo da atividade antinociceptiva e antiinflamatória da riparina II (O-metil-N-2-hidroxibenzoil tiramina) em modelos experimentais. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, 2011.

CHAVES, J. S.; COSTA, F. B.; FREITAS, L. A. P. Development of enteric coated tablets from spray dried extract of feverfew (*Tanacetum parthenium* L.). *Brazilian Journal Pharmaceutical Science*, v. 45, n. 3, p. 573-584, 2009.

COLLIER, H.D.J.; DINNIN, L.C.; JOHNSON, C.A.; SCHNEIDER, C. The abdominal response and its suppression by analgesic drug in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother*. 32:295-310. 1968.

CORDEIRO, C. H. G.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; PIZZOLITTO, A. C.; BAUAB, T. M. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais

empregados em formulação para a higiene bucal. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v.42, n.3, p. 395-404, 2006.

CORTES, M.L.; CASTRO, M.M.C.; JESUS, R.P.; NETO, J.A.B.; KRAYCHETE, D.C. Uso de terapêutica com ácidos graxos ômega-3 em pacientes com dor crônica e sintomas ansiosos e depressivos. Revista Dor, v.14, n.1, p.48-51, 2013.

COSTA, A. C. B. P.; PEREIRA, C. A.; FREIRE, F.; JUNQUEIRA, J. C.; JORGE, A. O. C. Atividade antifúngica dos extratos glicólicos de *Rosmarinus officinalis* Linn. E *Syzygium cumini* Linn. sobre cepas clínicas de *Candida albicans*, *Candida glabrata* e *Candida tropicalis*. Revista de Odontologia da UNESP, v. 38, n. 2, p. 111-116, 2009.

COSTA, L.C.B et al. Efeito da adubação química e orgânica na produção de biomassa e óleo essencial em capim-limão [*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.]. Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, p.16-20, 2008.

COSTA, R. S. Estudos de Pré-formulação e Formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae). Dissertação de Mestrado. Belém - PA: UFPA, 2010.

DANTAS, I. C. O raizeiro. 1ª ed. Campina Grande/Paraíba: EDUEP, 2007.

Dos ANJOS, J. V.; MENDONÇA Jr., F. J. B.; COSTA-SILVA, J. H.; SOUZA, I. A.; MELO, S. J. Estudo Preliminar da Toxicidade Aguda e das Atividades Anti-edematogênica e Antinociceptiva da 3,4-diidro-2-fenil-6-para-flúor-fenil-4-oxo-pirimidina-5-carbonitrila. Lat. Am. J. Pharm. v. 27 (3), p 339-44 (2008).

FERNANDES, F. H. A.; SANTANA, C. P.; SANTOS, R. L.; CORREIA, L. P.; CONCEIÇÃO, M. M.; MACEDO, R. O.; MEDEIROS, A. C. D.; Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. Journal Thermal Analysis and Calorimetric. Doi: 10.1007/s10973-012-2807-3, 2012.

FERREIRA, M. H.; GOMES, J. F. F.; SENA, M. M. Determinação de Dipirona em Formulação Farmacêutica por Espectroscopia no Infravermelho Próximo e Calibração Multivariada. SBQ. 30º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. 2006.

FLORENTINO, I. F.; NASCIMENTO, M. V. M.; GALDINO, P. M.; BRITO, A. F.; ROCHA, F. F.; TONUSSI, C. R.; LIMA, T. C. M.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activities of *Hydrocotyle leucobellata* L., Araliaceae (acariçoba) in mice. Academia Brasileira de Ciências.v. 85, n. 3, p. 987-997, 2013.

FRANCIO, V.C.J.E; REZENDE, A.A.; OLIVEIRA, C.S.; SOUZA, E.F.; DAMACENO, K. S.; FERNANDEZ, A. B. Avaliação da estabilidade físico-química, microbiológica e organolépticas da base creme não iônica Polawax®.Anais do EPGINIC. UNIVERSIDADE CAMILO CASTELO BRANCO. Fernandópolis – SP. 2013.

HENRIQUES, M. G. M. O.; SILVA, P. M. R.; MARTINS, M. A.; FLORES, C. A.; CUNHA, F. Q.; FILHO, J. A.; CORDEIRO, R. S. B. Mouse paw edema. A new model for inflammation? Braz. J. Med. Biol. Res., v. 20, p. 243-249, 1987.

IWALEWA, E.O.; MCGAW, L.J.; NAIDOO, V.; ELOFF, J.N. Inflammation: the foundation of diseases and disorders. A review of phyto-medicines of South African origin used to treat

pain and inflammatory conditions. *African Journal of Biotechnology*, v.6, n.25, p.2868-2885, 2007.

JÚNIOR, J. O. C. S.; VIEIRA, J. L. F.; BARBOSA, W. L. R.; PEREIRA, N. L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Universidade Federal do Pará, 2006.

JUNQUEIRA, M. V.; FERREIRA, F. M. D.; NOVELLO, C. R.; FRANCO, S. L. Otimizar a Secagem de Extrato de Própolis Utilizando a Nebulização em Comparação com a Liofilização. *Anais do XIX EAIC. UNICENTRO, Guarapuava –PR*. 2010.

KIRTANSINH, G.; PIYUSHBHAI, P.; NATUBHAI, P. Application of Analytical Techniques in Preformulation Study: A Review. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Archives*, v. 2, n.5, 2011.

KLAUMANN, P.R.; WOUK, A.F.P.F.; SILLAS, T. Patofisiologia da dor. *Archives of Veterinary Science*, v.13, n.1, p.1-12, 2008.

KLEIN, T. et al. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.*, vol. 30, p.241-248, 2009.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING TEORIA, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Editora Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 2001.

LIMA, A.; BAKKER, J. Espectroscopia no infravermelho próximo para a monitorização da perfusão tecidual. *Rev. Bras. Ter. Intensiva*, v. 23, n. 3; p. 341-351, 2011.

LIMA, L. L.; POLIZELLI, M.; MIRANDA, T. L.; ARAÚJO, I. M.; PINTO, D. S. A prática da fitoterapia a partir do conhecimento popular em três comunidades do Valentina, João Pessoa – Paraíba. *Rev. Ciênc. Saúde Nova Esperança*. v. 11 (3); p. 20-31, 2013.

LIMA, M. C. J. S.; SOTO-BLANCO, B. Poisoning in goats by *Aspidosperma pyrifolium* Mart.: Biological and cytotoxic effects. *Toxicon*, v. 55, n. 1, p. 320-324, 2010.

LIMA, L. R.; CAVALCANTE, R. R. L.; MARTINS, M. C. C.; PARENTE, D. M.; CAVALCANTE, A. A. M. C. Avaliação da atividade antiedematogênica antimicrobiana e mutagênica das sementes de *Amburana cearensis* (A. C. Smith) (Imburana-de-cheiro). *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v. 15, n.3, p. 415-422, 2013.

LOESER, J. D.; TREEDE, R. D. The Kyoto protocol of IASP Basic Pain Terminology. *Pain*, v.137, p. 473-477, 2008.

LUBI, N. C. Desenvolvimento de Forma Farmacêutica Líquida de Uso Oral, Isenta de Açúcar com Extrato Fluído de Guaco (*Mikania Glomerata Sprengel, Asteraceae*), para Afecções do Aparelho Respiratório. Dissertação de Mestrado. Curitiba – PR: UFPR, 2002.

MEDEIROS, A. C. D.; MEDEIROS, D. E.; MACÊDO, R. O. Thermal studies of *Albiziaainopinata* crude extract in the presence of ofcyclodextrin and Aerosil by TG and DSC coupled to the photovisual system. *Thermochemica Acta*, v. 392-393, p. 93-98, 2002.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. *Química Nova*, v. 34, n. 7, 2011.

OSAWA, T. Thermal analysis – review and prospect. *Thermochimica Acta*, v. 355, p. 35-42, 2000.

PARRATT, J. R.; WEST, G. B. Inhibition by various substances of oedema formation in the hind paw of the rat induced by 5-hydroxytryptamine, histamine, dextran, egg white and compound. *Br. J. Pharmacol.*, v. 13, p. 65-70, 1958.

SAHA, S.; HOSSAIN, F.; ANISUZZMAN, M.; ISLAM, M.K. Pharmacological evaluation of *Musa seminifera* Lour. Fruit. *Journal of Integrative Medicine*, v.11, n.4, p.253-251, 2013.

SANTOS, A. P. B.; NASCIMENTO, M. F. S.; SANTOS, F. S. E. Guia de Campo de Árvores da Caatinga. V. 1, p.16-17. Petrolina, Pernambuco. 2009.

SANTOS, M. C. dos et al. Resgate histórico de um grupo rural de estudos das plantas medicinais: educação em saúde. *Cadernos de Educação | FaE/PPGE/UFPel*, vol. 3,9 p. 285 - 299, 2011.

SANTOS, P. B. Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Var. *cebil* (Gris.) Alts e Pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart. 2010. 46f. Dissertação (Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 3, p. 347-356, 2007.

SILVA, F.O.C.; MACEDO, D.V. Physical exercise, inflammatory process and adaptive condition: an overview. *Revista Brasileira de Cineantropometria and Desempenho Humano*, v.13, n.4, p.320–328, 2011.

SILVA, J. C.; SARAIVA, S. R. G. L.; OLIVEIRA JUNIOR, R. G.; ALMEIDA, J.R. G. S. Modelos experimentais para avaliação da atividade antinociceptiva de produtos naturais: uma revisão. *Revista Brasileira de Farmácia*.v. 94 (1); p. 18-23, 2013.

SILVA JÚNIOR, J. O. C.; VIEIRA, J. L. F.; BARBOSA, W. L. R.; PEREIRA, N. L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16 (Suplemento), p. 671-677, 2006.

SILVA, R. C.; FERNANDES, P. R. D.; MORAES, A. R.; BIZERRA, A. M. C. Testes Fitoquímicos em Extratos Orgânicos de *Aspidosperma pyrifolium* (Pereiro). IX CONGIC. IFRN, 2011.

SILVA, R. M. F.; GOMES, T.C.B.L.; ALBUQUERQUE, M.M.; SILVA JUNIOR, J.O.C.; BARBOSA, W.L.R.; ROLIM NETO, P.J. Abordagem sobre os diferentes processos de secagem empregados na obtenção de extratos secos de plantas medicinais. *Rev. Bras. Pl. Med. Botucatu*, v.14, n.1, p.103-109, 2012.

SOARES, S. P.; VINHOLIS, A. H. C.; CASEMIRO, L. A.; SILVA, M. L. A.; CUNHA, W. R.; MARTINS, C. H. G. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico bruto de *Stryphnodendron adstringens* sobre microrganismos da cárie dental. Revista Odonto Ciências, v. 23, n. 2, p. 141-144, 2008.

SOUZA, A. P. T. B.; BARNI, S. T.; FERREIRA, R. A.; COUTO, A. G. Desenvolvimento tecnológico de soluções extrativas hidroetanólicas das flores de *calêndula officinalis* L. empregando planejamento fatorial. Latin American Journal of Pharmacy, v.29, n. 1, p. 13-21, 2010.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 56, p. 221-227, 2011.

WINTER, C. A.; RISELY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan induced edema in the hind paw of rats as an assay anti-inflammatory drugs. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., v. 111, p. 544-547, 1962.

ZOLLNER, T.; SCHWARZ, M.; Herbal Reference Standards: applications, definitions and regulatory requirements. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.23, n.1, p.1-21, 2013.

CAPÍTULO 1

Rodrigues, J. V. M. **Estudo de uma formulação candidata a solução oral realizada entre excipientes farmacêuticos e extrato de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2015.

RESUMO

Todo novo medicamento necessita de estudos prévios que trilhem o melhor caminho para a sua produção. Assim, a pré-formulação é uma ferramenta importante no desenvolvimento de novas formulações. Ao utilizar insumo ativo vegetal, é possível melhorar seu uso realizando a nebulização do extrato hidroalcoólico da planta, facilitando a padronização e manuseio durante as preparações farmacêuticas. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi realizar o estudo de uma formulação candidata a solução oral obtida com extratos de *A. pyrifolium* Mart (pereiro). Para isso, após a nebulização em *spray drier*, o extrato foi caracterizado e submetido ao estudo de pré-formulação com o auxílio de técnicas termoanalíticas e de infravermelho próximo. Os excipientes foram escolhidos a partir de literatura específica e de seu uso em formas líquidas para uso oral. As classes de excipientes presentes nessa triagem foram os cossolventes, conservantes, antioxidantes, agentes tamponantes e edulcorantes. Todos eles foram analisados isoladamente e em mistura binária com o extrato nebulizado da planta. Foi possível, a partir dos resultados apresentados pela análise térmica e pelo infravermelho próximo, verificar quais excipientes seriam a melhor escolha para compor uma formulação líquida com o extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. Os excipientes que apresentaram compatibilidade com o extrato foram: propilenoglicol, glicerina, metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sódio, EDTA, ácido lipóico, fosfato de sódio dibásico e frutose. Conclui-se que, após a realização dos estudos de pré-formulação, foi possível escolher excipientes para uma forma farmacêutica líquida com mais veemência, além de prever incompatibilidades entre insumo vegetal e excipientes envolvidos. Medidas essas que corroboraram para a conservação das propriedades do extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart.

Palavras-chave: Pré-formulação, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., excipientes farmacêuticos, compatibilidade, análise térmica, infravermelho próximo.

ABSTRACT

Rodrigues, J. V. M. Study of a candidate for oral solution formulation held between pharmaceutical excipients and *Aspidosperma pyriforme* Mart. extract.

Every new drug requires preliminary studies that tread the best way for their production. Thus, the pre-formulation is an important tool in developing new formulations. When using vegetable active ingredient, you can improve your use performing fogging of the hydroalcoholic extract of the plant, facilitating standardization and handling for the pharmaceutical preparations. The objective of this work was the study of a candidate for oral solution formulation obtained with *A. pyriforme* Mart extracts. For this, after nebulization for spray drier, the extract was characterized and subjected to the pre-formulation study with the aid of thermoanalytical techniques and near infrared. The excipients were chosen from the literature and their use in liquid forms for oral use. The classes of excipients present in this screening were cosolvents, preservatives, antioxidants, buffering agents and sweeteners. They were analyzed alone and in binary mixture with nebulized plant extract. It was possible from the results presented by the thermal analysis and the near infrared, check which excipients would be the best choice to compose a liquid formulation with nebulized extract of *A. pyriforme* Mart. The excipients showed no incompatibility with the extract were: propylene glycol, glycerin, methylparaben, propylparaben, sodium benzoate, EDTA, lipoic acid, dibasic sodium phosphate and fructose. In conclusion, after the completion of pre-formulation studies, it was possible to choose excipients for a liquid dosage form more vehemently. Aside from identifying incompatibilities between vegetable ingredient and excipients involved. Measures that corroborated this for the conservation of nebulized extract properties *A. pyriforme* Mart.

Keywords: Pre-formulation, *Aspidosperma pyriforme* Mart., nebulized extract, pharmaceutical excipients, compatibility, thermal analysis, near infrared.

1. INTRODUÇÃO

Os estudos de pré-formulação, a partir das informações e conhecimentos adquiridos, fornecem uma compreensão científica que dá apoio à criação de um espaço, uma base, diante dos riscos que podem prejudicar a qualidade de um produto (RATHORE, WINKLE, 2009).

A pré-formulação abrange ferramentas que fornecem dados que podem influenciar no desenvolvimento da formulação, no processo de produção, na farmacocinética, nas propriedades biofarmacêuticas do produto final e na embalagem de acondicionamento. Tais informações podem ser de cunho físico-químico, propriedades biofarmacêuticas do fármaco, excipientes e materiais de embalagem (COSTA, 2010; SOARES-SOBRINHO et al., 2010, GOPINATH & NAIDU, 2011).

Após a caracterização do fármaco, este deve ser formulado em uma forma farmacêutica adequada. Mesmo inertes biologicamente, os excipientes podem apresentar interação com o fármaco, e comprometer sua absorção e biodisponibilidade (STULZER et al., 2008). Estudos de compatibilidade entre o fármaco e excipientes, durante a etapa de pré-formulação, ajudam na seleção de excipientes que aumentam a probabilidade de desenvolver uma formulação estável (TITA et al., 201; COÊLHO, 2012).

O efeito terapêutico de um fármaco depende da sua biodisponibilidade e da solubilidade de suas moléculas. A solubilidade é um dos parâmetros mais importantes para alcançar a concentração desejada do fármaco na circulação sistêmica, para se obter uma resposta farmacológica (ALMEIDA, 2009).

Técnicas de análise térmica podem avaliar a compatibilidade entre fármaco e excipientes através da interação entre os componentes pela mudança de aparência, ou o desaparecimento dos picos endotérmicos ou exotérmicos e ou variações nos valores de entalpia correspondente a mistura fármaco excipiente (BHARATE, BHARATE & BAJAJ., 2010; TITA et al., 2011).

Além da análise térmica, é preciso complementar as informações com o auxílio de outras técnicas, como a difratometria de Raios X, espectroscopia de infravermelho e Raman (VERMA & GARG, 2004; SLAVIO et al., 2009; NUNES, 2009).

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a compatibilidade entre o extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. (EPN), com excipientes farmacêuticos usados na produção de formas líquidas, utilizando técnicas analíticas, com o auxílio de ferramentas quimiométricas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material Vegetal e Extrato Seco

Foram utilizadas cascas de *Aspidosperma pyriforme* Mart. O material foi coletado na região do planalto da Borborema, no sítio Capim Grande, proximidades do distrito de São José da Mata, Campina Grande - PB, em dezembro de 2012 (coordenadas: S7°13'27,56" – W36°00'53,37"). O material foi identificado pelo Prof. Dr. Leonardo Pessoa Félix, e a excisada depositada no herbário Jayme Coelho de Moraes, Universidade Federal da Paraíba (UFPB), sob o número 20104.

O material vegetal coletado foi seco em estufa de ventilação forçada à temperatura constante de 40 °C e processado em moinho de facas com granulometria de 10 Mesh.

O extrato hidroalcoólico foi obtido por turbólise, utilizando como solvente água:etanol (30:70, v/v). Em seguida o extrato foi submetido ao processo de secagem por nebulização em *spray drier* em condições padrão de temperatura, pressão e fluxo. O extrato nebulizado foi obtido com o dióxido de silício coloidal (Aerosil 200®) em 20% em relação ao resíduo seco.

A proporção vegetal/solução hidroalcoólica foi de 20 gramas de insumo para cada 100 mL de álcool a 70%. A temperatura de nebulização foi de 120 °C. A vazão de ar comprimido foi de 40 L.min⁻¹. A vazão de ar de secagem foi 3,5 m³. min⁻¹ e a vazão da amostra seguiu a razão de 0,3 L a cada litro.

2.2 Misturas Binárias

As misturas binárias foram preparadas a partir de misturas físicas do extrato de *A. pyriforme* Mart. (EPN) com excipientes farmacêuticos de característica tamponante, antioxidante, conservante, cossolvente ou edulcorante. Os estudos foram realizados usando misturas nas proporções 1:1.

Os excipientes foram escolhidos para a pré-formulação com base na literatura científica da área (THOMPSON, 2006; GIL, 2007; ROWE et al., 2009) e estão dispostos na Tabela 1.

Tabela 1 – Excipientes para o estudo da formulação candidata.

Função	Excipientes
Agente tamponante	Fosfato de sódio dibásico Ácido cítrico
Antioxidante	Metabissulfito de sódio EDTA Ácido ascórbico Ácido lipoico
Conservante	Nipagin (metilparabeno) Nipasol (propilparabeno) Benzoato de sódio Ácido benzoico
Cossolvente	Glicerina Propilenoglicol Sorbitol
Edulcorante	Manitol Aspartame Frutose Sacarina

2.3 Análise Térmica

As curvas calorimétricas foram obtidas utilizando a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC) em uma célula de DSC modelo Q20 da TA Instruments[®], em atmosfera de N₂ (50 mL.min⁻¹), com amostras de 2 ± 0,5 mg em porta amostras de alumínio e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ até 400°C. O equipamento foi calibrado utilizando como padrão amostra de índio e os dados foram analisados, utilizando o software TA Universal Analysis 2000[®].

A análise termogravimétrica (TG/DTG) foi realizada em analisador térmico simultâneo modelo SDT Q600 da TA Instruments[®] usando amostra de m5 mg, com razão de 10 °C.min⁻¹ até temperatura de 1200 °C. A atmosfera usada foi nitrogênio, com fluxo constante de 50 mL.min⁻¹. As análises não-isotérmicas foram realizadas, com a finalidade de detectar as temperaturas que antecedem o processo de decomposição da amostra. Os dados foram analisados pelo software TA Universal analysis[®] 4.5A.

2.4 Infravermelho Próximo (NIR)

O infravermelho próximo (NIR) foi utilizado para caracterizar o extrato nebulizado e para ratificar as análises realizadas pelo TG e DSC, confirmando a escolha dos excipientes considerados compatíveis com o extrato de *A. pyrifolium* Mart.

Os espectros de absorção na região do infravermelho próximo foram obtidos através de espectrofotômetro modelo Perkin Elmer Lambda 750, na região de $2500 - 750 \text{ cm}^{-1}$, com resolução de 2 nm e realização de 5 scans por amostra colocada em dispositivo apropriado para este tipo de análise. Os dados obtidos foram tratados com o auxílio do *software the unscrambler 9.7*.

As amostras foram analisadas em quintuplicata, a curva espectral foi construída a partir da média das cinco curvas obtidas e os dados foram discriminados através de métodos quimiométricos realizados pelo software (CALIANDRO et al., 2013).

A Análise de Componentes Principais (PCA) das amostras (extrato + excipientes) foram interpretados utilizando a 1ª derivada Savitsky-Golay, janela de 21 pontos e polinômio de segunda ordem. Arelado a isso, foi realizado o teste de solubilidade extrato-cossolvente na busca pelo melhor aspecto visual. No estudo de pré-formulação dos excipientes sólidos, além da ferramenta do PCA, uma tabela SIMCA (*Soft Independent Modeling by Class Analogy*) foi construída para a classificação supervisionada dos excipientes em compatíveis e incompatíveis através da interpretação dos dados com o auxílio da Quimiometria (SABIN, 2004).

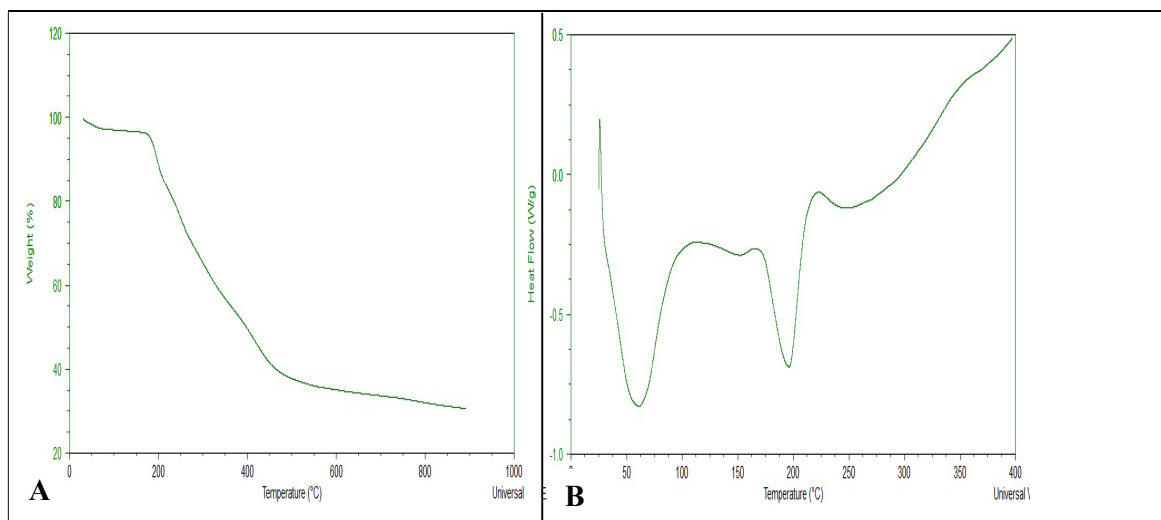
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Análise térmica

3.1.1 Caracterização do extrato

O extrato nebulizado de *A.pyrifolium* Mart. foi caracterizado por análise térmica. As curvas TG e DSC estão demonstradas figura 2.

Figura 2 – Curvas de TG (A) e DSC (B) do extrato de *A.pyrifolium* Mart.



A curva TG do extrato apresentou três etapas de perda de massa (Figura 2A). O primeiro evento ocorreu entre 30,22 e 122,04 °C e apresentou uma perda de massa de 2,93 %, o qual foi atribuído à perda de umidade do extrato. A segunda etapa, que corresponde ao início do seu processo de decomposição ocorreu entre 146,20 e 283,68 °C, com perda de massa de 27,95%. Havendo ainda dois eventos de decomposição, o terceiro que ocorreu entre 321,52 e 510,72 °C, com 23,71% de perda de massa vegetal, e o último ocorrendo entre 616,67 e 891,11 °C, com 4,17% de perda. No final deste processo verificou-se a presença de um resíduo mineral, o qual não se decompõe, na sua totalidade até 900,00 °C. Esse resíduo corresponde ao teor de cinzas da amostra, que foi de 30,61 %, ocorrido numa faixa de temperatura de 30,22 a 891,11 °C. Este resíduo pode ser atribuído, em parte, ao teor de Aerosil[®] contido na amostra que foi de 20,00 %.

Ao construir a curva termogravimétrica (TG) do pó de *Heliotropium indicum* L., Costa et al. (2013) obteve uma perda inicial de massa de 11,88% na faixa de temperatura de 25,00 a 110,00 °C. O início do processo de degradação ocorreu em 240,00 °C, e foi até aproximadamente 330,00 °C, com perda de massa de 32,12%. O processo final de decomposição ocorreu em 600,00 °C, com perda de massa em 33,94%. O resíduo final foi de 20,36%.

A figura 2B demonstra as etapas em que há transferência de energia. A primeira etapa ocorreu entre 30,77 e 107,07° C, com temperatura de pico de 61,32 °C ($\Delta H = 131,10 \text{ J.g}^{-1}$). A segunda etapa ocorreu na faixa de temperatura entre 170,00 e 220,00 °C. A energia envolvida foi de $70,43 \text{ J.g}^{-1}$. Por fim, a terceira etapa ocorreu entre 227,00 e 353,00 °C ($\Delta H = 74,67 \text{ J.g}^{-1}$). Todas as três etapas foram de caráter endotérmico.

O extrato da *Schinopsis brasiliensis* Engler apresentou temperatura de pico endotérmico em 69,06 °C ($\Delta H = 89,96 \text{ J.g}^{-1}$) (FERNANDES et al., 2013). A temperatura do pico endotérmico encontrado para este extrato foi próxima ao mostrado no nosso, o que provavelmente está relacionado com a perda de constituintes voláteis da amostra, como a água e possivelmente o etanol, tendo em vista que o extrato nebulizado foi produzido a partir de uma solução hidroalcoólica a 70 %.

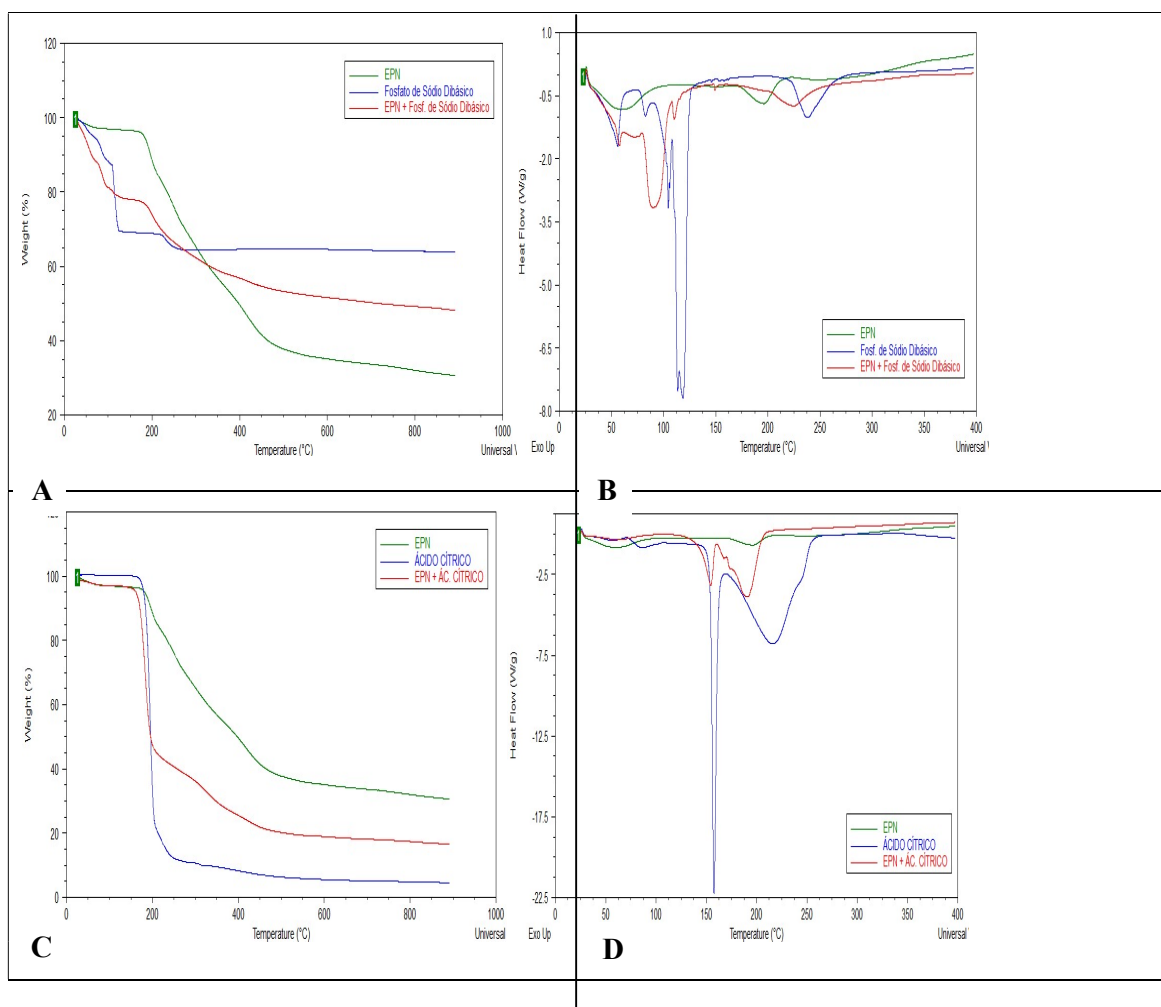
O extrato na forma de pó apresenta vantagens quando comparado à forma fluida convencional, pois algumas características são aprimoradas como uma maior concentração, estabilidade e facilidade de padronização dos insumos ativos, e até mesmo menor espaço para armazenamento. Para a produção de insumos farmacêuticos é comum o uso do *spray drier*, instrumento que atua na etapa de desidratação do extrato (SOUZA, 2007).

Através da termogravimetria e da calorimetria exploratória diferencial foi possível avaliar o comportamento térmico do extrato nebulizado, dos excipientes escolhidos e de ambos, quando em mistura binária. Medidas tomadas no intuito de prever interações entre eles que pudessem alterar as propriedades químicas e, conseqüentemente, suas funções. A compatibilidade ou incompatibilidade do extrato com os excipientes foi verificada a partir dos perfis das curvas obtidas e da antecipação ou não de etapas de decomposição, fatos que puderam ser observados graficamente e ratificados com os dados expostos em tabelas (COSTA, 2010).

3.1.2 Misturas binárias

Como agentes tamponantes foram estudados o fosfato de sódio dibásico e o ácido cítrico, a fim de avaliar qual destes apresentou melhor comportamento com o extrato. As curvas TG e DSC das misturas binária extrato + excipientes encontram-se na Figura 3 (Tabelas 2 e 3).

Figura 3 – Curvas TG e DSC do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes tamponantes e misturas binárias. (A) Curvas TG do Fosfato de Sódio Dibásico; (B) Curvas DSC do Fosfato de Sódio Dibásico, (C) Curvas TG do Ácido Cítrico, (D) Curvas DSC do Ácido Cítrico.



Nas curvas TG do fosfato de sódio dibásico (Figura 3A) é possível perceber que na curva referente à mistura binária há a conservação da maioria das etapas do extrato, como também do excipiente, quando separados. Algumas etapas da curva TG da mistura mantiveram temperaturas próximas aos valores observados em cada um, separadamente.

Na curva DSC do fosfato de sódio dibásico (Figura 3B) é observada uma inflexão da curva faixa de perda de água livre, semelhante ao evento do excipiente, não ao do extrato. O

pico endotérmico em 82,56 °C é deslocado para 90,02 °C, porém sem alteração significativa da sua temperatura *onset*. O pico endotérmico em 118,44 °C, correspondente à degradação do excipiente, é registrado na mistura em 109,56 °C, porém sem alteração da temperatura *onset*. Não se nota outros eventos significativos a partir desta temperatura, salvo a decomposição dos componentes, que ocorre a partir de 162,48 °C, com pico endotérmico em 224,64 °C.

Na Figura 3C, referente à análise de compatibilidade do ácido cítrico frente ao extrato de *A. pyrifolium* Mart. foi possível perceber a diferença de etapas de decomposição do extrato e excipiente, quando separados. Este apresentou sua decomposição em duas etapas, enquanto que aquele em quatro.

Na Figura 3D, observou-se o início da decomposição do ácido cítrico foi antecipado de 171,00 para 161,00 °C. Uma vez que o início da decomposição do extrato (172,00 °C) está dentro deste intervalo, os eventos foram sobrepostos. A forma anidra do ácido cítrico possui pico de fusão em 153,00 °C (MERCK INDEX, 2013). O pico endotérmico observado neste excipiente, característico do seu processo de fusão, foi antecipada de 157,68 ($\Delta H = 604,30 \text{ J.g}^{-1}$), para 154,00 °C ($\Delta H = 183,00 \text{ J.g}^{-1}$). Não houve eventos significativos anteriores a este intervalo.

Tabela 2 - Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes tamponantes e mistura binária.

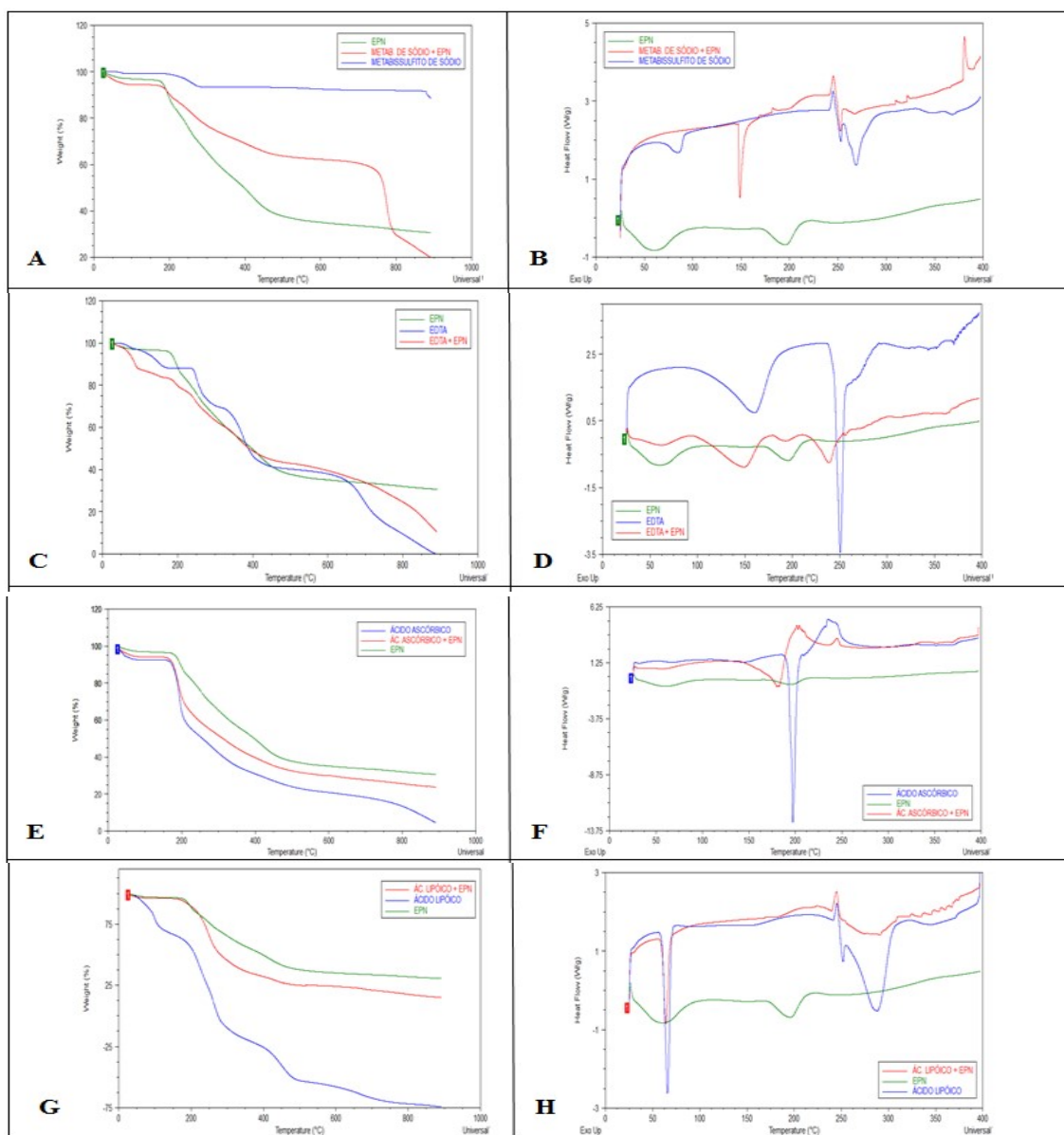
Amostras	Etapas de decomposição	Início (°C)	Final (°C)	Perda (%)
Extrato nebulizado	Primeira	30,22	143,68	3,11
	Segunda	146,20	283,68	27,95
	Terceira	321,52	510,72	23,71
	Quarta	616,67	891,11	4,169
ÁcidoCítrico	Primeira	163,41	257,01	87,98
	Segunda	352,99	649,20	2,70
ÁcidoCítrico + Extrato (1:1)	Primeira	30,70	63,88	1,476
	Segunda	142,08	208,43	51,19
	Terceira	208,43	630,25	24,99
Fosfato de Sódio Dibásico	Primeira	33,07	97,06	11,23
	Segunda	97,06	127,86	18,99
	Terceira	202,51	271,23	4,39
Fosfato de Sódio Dibásico + Extrato (1:1)	Primeira	30,29	68,62	10,47
	Segunda	68,62	129,05	10,11
	Terceira	129,05	482,14	24,80
	Quarta	594,70	890,92	3,55

Tabela 3 - Dados das curvas DSC referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes tamponantes e mistura binária.

Amostra	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	T Inicial/Final (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)
EPN	25,93	3,89	25,06 – 28,57	61,32	131,1	30,42 – 106,91	196,97	70,43	171,30 – 220,77	294,27	74,67	220,77 – 354,07
Fosfato de Sódio Dibásico	56,08	98,39	29,97 – 64,45	104,45	60,88	91,85 – 108,03	118,99	426,9	108,03 – 127,35	239,00	120,0	222,94 – 270,33
Ác. cítrico	157,65	604,3	148,78 – 166,79	219,18	1438	166,79 – 259,21	-	-	-	-	-	-
EPN + Fosfato de Sódio Dibásico	53,50	7,92	57,30 – 60,70	93,50	209,06	79,91 – 108,23	110,21	9,06	108,23 – 148,60	225,80	61,46	202,09 – 255,17
Ác. cítrico	154,45	183,0	117,62 – 160,53	191,83	536,4	160,39 – 211,79	-	-	-	-	-	-

Com agentes antioxidantes foram estudados o metabissulfito de sódio, EDTA, ácido ascórbico e ácido lipóico, a fim de se avaliar qual destes excipientes apresentaram melhor comportamento térmico com o extrato. As curvas de TG e DSC dos antioxidantes, das misturas binárias e do extrato encontram-se na Figura 4 (Tabela 4 e 5).

Figura 4 – Curvas de TG e DSC do extrato de *A. pyrifolium* Mart. antioxidantes e misturas binárias (1:1). (A) Curvas TG do Metabissulfito de Sódio, (B) Curvas DSC do Metabissulfito de Sódio, (C) Curvas TG do EDTA, (D) Curvas DSC do EDTA, (E) Curvas TG do Ácido Ascórbico, (F) Curvas DSC do Ácido Ascórbico, (G) Curvas TG do Ácido Lipóico, (H) Curvas DSC do Ácido Lipóico.



Na curva TG do metabissulfito de sódio (Figura 4A), a perda de umidade da amostra manteve-se na mesma faixa de temperatura quando as substâncias estavam isoladas ou em mistura. A curva referente à mistura manteve as quatro etapas de decomposição, porém, com temperaturas diferentes.

Na curva DSC do metabissulfito de sódio (Figura 4B) se observou que o pico exotérmico presente na curva do excipiente, a qual manteve seu valor de temperatura na curva da mistura. Porém, o outro pico presente na curva da mistura binária com temperatura de 148,74 °C diferiu dos valores apresentados tanto pelo excipiente como pelo insumo vegetal quando isolados.

Ao analisar as curvas TG do EDTA (Figura 4C) foi possível observar que, mesmo as duas últimas etapas de decomposição do EDTA não aparecerem na curva referente à mistura, houve a conservação das quatro etapas presentes na curva de decomposição do extrato, quando analisado separadamente. Sendo o EDTA sugestivo de compatibilidade com o extrato estudado.

Na curva DSC do EDTA (Figura 4D) houve proximidade nas temperaturas de pico do excipiente e extrato, quando isolados, com os valores apresentados em cada pico endotérmico. As temperaturas de pico do extrato (57,82 e 196,97° C, respectivamente) foram bem próximas das temperaturas do primeiro e terceiro picos da curva referente à mistura binária (63,16 e 293,69 °C, respectivamente). O mesmo ocorrendo com o excipiente. As temperaturas de seus picos (161,20 e 250,67 °C, respectivamente) foram próximas das temperaturas do segundo e quarto picos da curva da mistura (149,42 e 239,50 °C, respectivamente).

A Figura 4E demonstra as curvas TG que avaliaram a compatibilidade do ácido ascórbico. O excipiente apresentou quatro etapas de decomposição, assim como o extrato de *A. pyrifolium* Mart., com temperaturas próximas em algumas etapas. Porém, na curva referente à mistura só foram observadas três etapas com temperaturas diferindo das outras curvas.

A Figura 4F traz as curvas DSC referentes ao estudo de compatibilidade do extrato, com o ácido ascórbico, o qual apresentou um pico endotérmico com temperatura de 197,25 °C, e outro exotérmico com 235,17 °C. Segundo Merck Index (2013), o ácido ascórbico possui ponto de fusão entre 190,00 a 192,00 °C. Na curva referente à mistura, houve a conservação das características dos picos do excipiente, mas o mesmo não ocorreu com as características do extrato vegetal.

As curvas de TG presentes na Figura 4G demonstraram a similaridade nas etapas finais das curvas do excipiente ácido lipóico e da mistura extrato-excipiente. As três últimas

etapas de decomposição do ácido lipóico aconteceram em temperaturas próximas àquelas presentes na mistura extrato-excipiente.

As curvas DSC, Figura 4H, referentes ao ácido lipóico, demonstraram a similaridade de temperaturas no primeiro pico de caráter endotérmico com temperaturas próximas nas substâncias, quando analisadas separadas ou mesmo juntas. Com temperaturas no primeiro pico de 57,82 , 65,78 e 64,34 °C para o extrato de *A. pyrifolium* Mart., o ácido lipóico e a mistura binária, respectivamente. Segundo Merck Index (2013), o ácido lipóico possui ponto de fusão entre 60,00 a 62,00 °C. O ácido lipóico teve um pico exotérmico em sua curva na temperatura de 246,58 °C. Na mistura houve o aparecimento de um pico exotérmico na temperatura de 245,34 °C. O pico endotérmico presente na curva do extrato na temperatura de 196,97°C não apareceu na curva referente à mistura. Já o segundo pico endotérmico presente na curva do ácido lipóico na temperatura de 288,94 °C manteve-se na curva da mistura binária com uma temperatura de 291,90 °C.

As curvas TG e DSC dos agentes com ação conservante, Nipagin[®] + Nipazol[®], benzoato de sódio e ácido benzoico (ABZ), encontram-se na Figura 5 e Tabelas 6 e 7.

Após analisar as curvas de TG referentes à análise da compatibilidade da mistura Nipagin[®] + Nipazol[®] (Figura 5A) foi possível notar que a decomposição dos excipientes, na ausência do extrato, ocorreu em duas etapas. Na análise da mistura, houve o aparecimento de um terceiro evento, provavelmente correspondente a um dos processos de decomposição ocorrentes no extrato, mas que não causou grandes alterações.

Ao avaliar a mistura binária do metilparabeno/extrato liofilizado de *Calendula officinalis* L., Nunes (2008) averiguou que o excipiente apresentou comportamento térmico semelhante ao do extrato liofilizado, pois suas perdas de massa ocorreram em quatro etapas. A primeira etapa de perda de massa ocorreu no intervalo de 25 a 90°C, com um percentual de perda de 1,9%. Este resultado infere uma melhora da estabilidade térmica do extrato *C. officinalis* L., quando misturado fisicamente com o metilparabeno, visto que o extrato liofilizado, quando analisado isoladamente, apresentou um percentual de termo decomposição de 4,23% no mesmo intervalo de temperatura (25 a 90 °C).

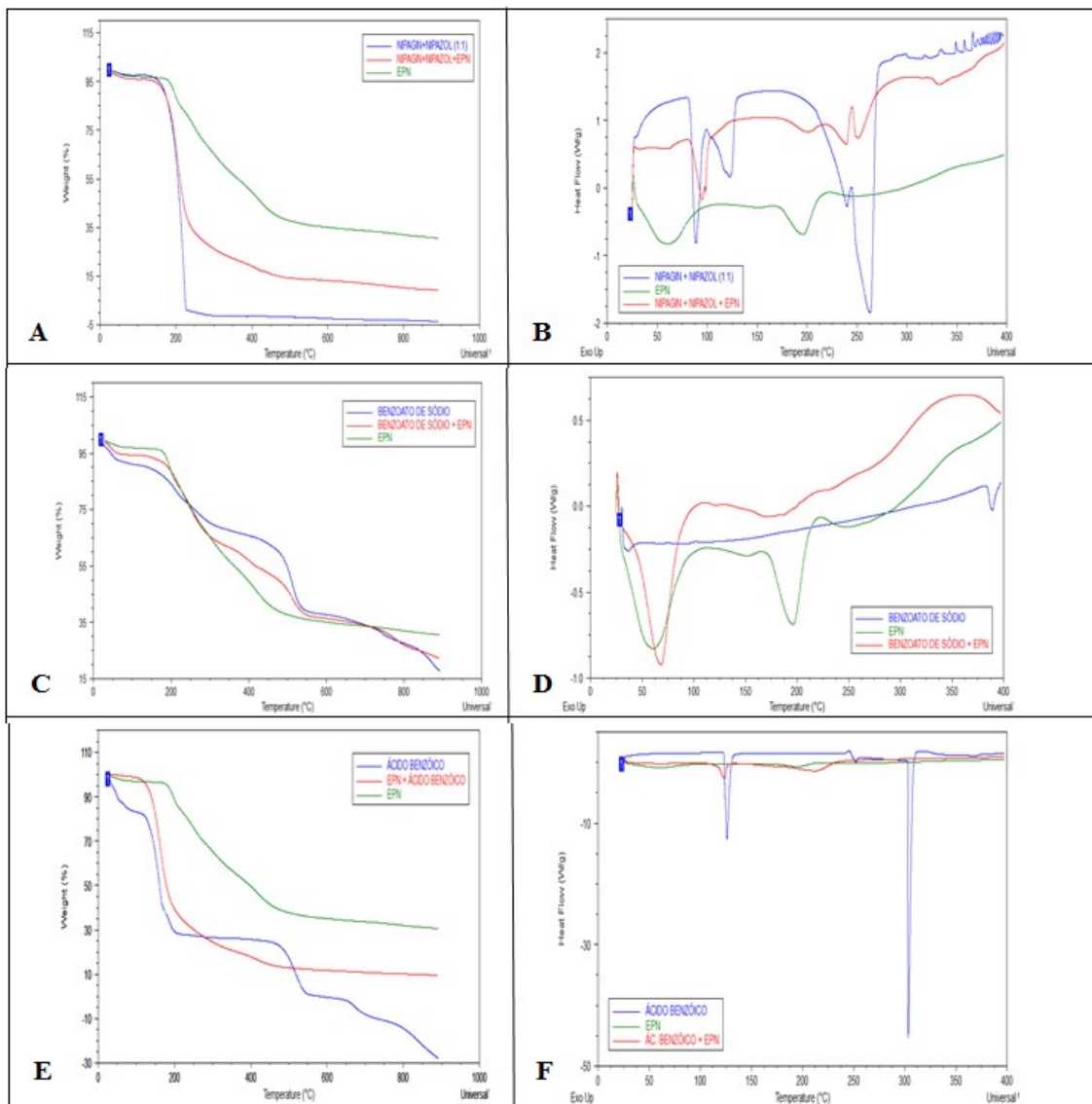
Tabela 4 - Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes antioxidantes e mistura binária.

Amostras	Etapas de decomposição	Início (°C)	Final (°C)	Perda (%)
Extrato nebulizado	Primeira	30,22	143,68	3,11
	Segunda	146,20	283,68	27,95
	Terceira	321,52	510,72	23,71
	Quarta	616,67	891,11	4,169
ÁcidoAscórbico	Primeira	30,79	63,88	5,45
	Segunda	158,67	222,65	36,57
	Terceira	222,65	554,42	33,93
	Quarta	554,42	889,73	17,30
ÁcidoAscórbico + Extrato (1:1)	Primeira	30,70	74,54	3,93
	Segunda	155,11	531,90	62,52
	Terceira	605,36	890,89	6,26
Ácido Lipóico	Primeira	27,15	111,27	26,60
	Segunda	111,27	230,95	38,54
	Terceira	230,95	298,48	44,73
	Quarta	298,48	488,06	41,88
	Quinta	554,42	890,52	18,98
Ácido Lipóico + Extrato (1:1)	Primeira	30,16	75,57	2,84
	Segunda	152,51	334,14	57,38
	Terceira	334,14	498,11	13,44
	Quarta	605,32	890,84	8,89
EDTA	Primeira	50,85	94,69	2,92
	Segunda	94,69	168,15	8,31
	Terceira	238,06	313,89	18,58
	Quarta	313,89	450,15	28,16
	Quinta	602,99	726,22	19,53
	Sexta	726,22	889,73	18,56
	Primeira	31,89	95,87	11,77
EDTA + Extrato (1:1)	Segunda	95,87	270,05	20,01
	Terceira	270,05	445,41	22,90
	Quarta	536,64	889,73	31,56
Metabissulfito de Sódio	Primeira	30,70	81,65	0,83
	Segunda	182,37	293,74	5,82
	Terceira	515,31	672,90	1,03
	Quarta	857,74	890,73	3,16
Metabissulfito de Sódio + Extrato (1:1)	Primeira	29,70	88,76	4,51
	Segunda	172,89	514,13	30,64
	Terceira	683,57	804,42	31,89
	Quarta	804,42	890,54	9,152

Tabela 5 - Dados das curvas DSC referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes antioxidantes e misturas binárias.

Amostra	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)
EPN	25,93	3,89	25,06 – 28,57	61,32	131,1	30,42 – 106,91	196,97	70,43	171,30 – 220,77	294,27	74,67	220,77 – 354,07
Met. de sódio EDTA	86,60	25,59	70,10 – 92,85	245,49	26,53	241,18 – 253,12	257,14	33,07	253,05 – 268,69	-	-	-
Ác. ascórbico	161,50	450,1	92,27 – 215,97	250,69	434,8	236,94 – 291,68	-	-	-	-	-	-
Ác. lipóico	197,25	514,1	187,14 – 206,77	234,75	250,6	213,59 – 249,42	-	-	-	-	-	-
EPN+met. de sódio	65,84	140,5	57,78 – 73,42	246,58	24,28	241,67 – 251,62	267,32	85,05	251,62 – 288,12	-	-	-
EPN + EDTA	148,74	51,36	146,18 – 163,47	245,82	26,63	164,31 – 253,17	254,72	15,97	253,17 – 267,75	380,68	15,00	379,50 – 387,54
EPN + Ác. ascórbico	64,48	37,74	38,35 – 94,27	149,37	218,9	94,27 – 179,11	239,47	88,70	211,34 – 254,47	-	-	-
EPN + Ác. lipóico	182,89	573,5	140,25 – 201,86	245,36	22,09	237,41 – 250,68	-	-	-	-	-	-
EPN + Ác. lipóico	64,34	70,92	56,83 – 72,95	245,34	16,90	239,78 – 250,20	309,51	18,04	293,33 – 335,04	-	-	-

Figura 5 – Curvas de TG e DSC do extrato de *A. Pyrifolium* Mart., conservantes e misturas binárias (1:1). (A) Curvas TG do Nipagin® + Nipazol®, (B) curvas DSC do Nipagin® + Nipazol®, (C) Curvas TG de Benzoato de Sódio, (D) curvas DSC de Benzoato de Sódio, (E) curvas TG de Ácido Benzóico, (F) curvas DSC de Ácido Benzóico.



Na análise do DSC da mistura de conservantes (Figura 5B) foi verificado que com apenas os excipientes na proporção 1:1, ocorreram quatro eventos endotérmicos com as seguintes temperaturas de pico: 88,58 °C, 123,60 °C, 239,00 °C e 263,78 °C. Na mistura binária houve a conservação dos picos referentes ao extrato vegetal, nas temperaturas de 62,79 e 198,13 °C. Além de conservar os picos referentes aos conservantes, que na curva da

mistura, ocorreram nas temperaturas de 95,27, 239,80 e 252,23 °C. Não houve antecipação de etapas, sugerindo compatibilidade entre as substâncias.

Para a análise do benzoato de sódio como agente conservante por TG (Figura 5C), excipiente, extrato e mistura binária apresentaram o mesmo número de etapas de decomposição, assim como, valores de temperatura bem próximos em algumas dessas etapas. O perfil térmico deste excipiente foi favorável para o extrato de *A. pyriformium* Mart.

A Figura 5D demonstrou a análise por DSC do benzoato de sódio. A curva referente à mistura conservou os dois picos do extrato quando isolado. O primeiro na temperatura de 68,84 °C e o segundo pico referente ao extrato que foi conservado na curva da mistura binária, o qual ocorreu na temperatura 187,49 °C. O último evento do excipiente que se iniciou após 382,71 °C, não foi registrado na curva da mistura.

A Figura 5E demonstra a análise por TG do ácido benzoico. Os vários eventos que os compostos apresentaram quando analisados separadamente e a redução de número dos mesmos quando as substâncias encontrava-se em mistura binária já foram indícios prévios de incompatibilidade entre eles.

Através da curva DSC demonstrada pela Figura 5F, notou-se que a primeira etapa para o excipiente ácido benzoico isolado ou junto com o extrato possui valores de temperatura próximos. Na curva do ácido benzoico isolado ele apresentou um primeiro evento variando de 121,66 a 133,03 °C. Na mistura esse evento ocorreu na faixa de temperatura de 105,74 a 130,75 °C. Já o segundo evento ocorrido no excipiente isolado apresentou valores insatisfatórios já que apresentava uma faixa de temperatura de 302,98 a 312,08 °C e na mistura apresentou o evento entre 186,46 e 240,46 °C.

Os dados referentes as curvas TG e DSC cossolventes utilizados, glicerina, propilenoglicol e sorbitol, encontram-se na Figura 6/Tabelas 7 e 8.

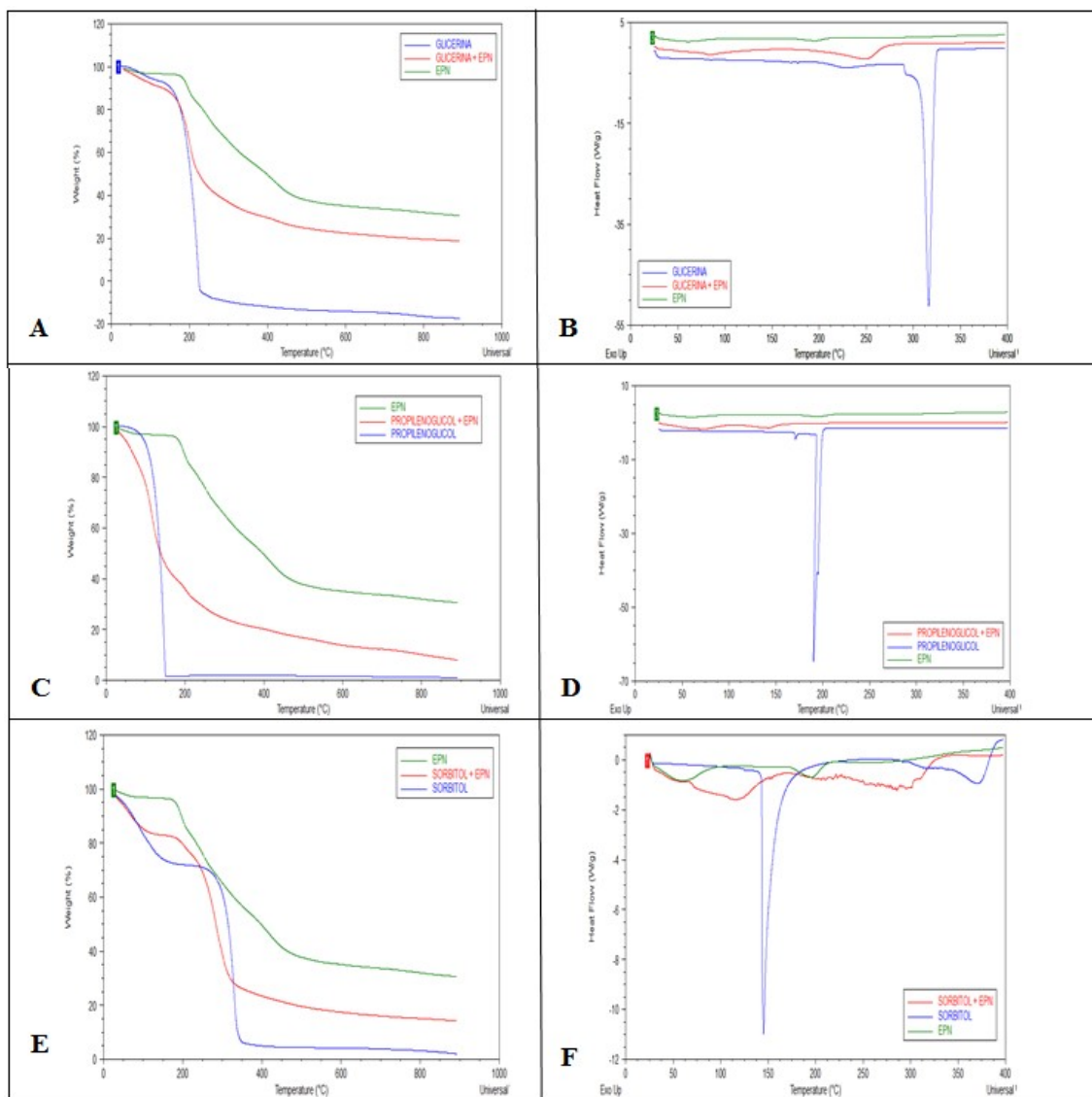
Tabela 6 - Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes conservantes e mistura binária.

Amostras	Etapas de decomposição	Início (°C)	Final (°C)	Perda (%)
Extrato nebulizado	Primeira	30,22	143,68	3,11
	Segunda	146,20	283,68	27,95
	Terceira	321,52	510,72	23,71
	Quarta	616,67	891,11	4,169
ÁcidoBenzóico	Primeira	29,59	92,32	14,02
	Segunda	114,83	207,25	53,84
	Terceira	452,52	549,68	23,51
	Quarta	640,91	743,99	9,26
	Quinta	743,99	890,92	17,24
ÁcidoBenzóico + Extrato (1:1)	Primeira	104,16	317,44	75,57
	Segunda	317,44	457,26	8,87
Benzoato de Sódio	Primeira	24,78	78,10	7,48
	Segunda	134,97	317,44	21,28
	Terceira	317,44	552,05	30,25
	Quarta	638,54	892,02	18,90
Benzoato de Sódio + Extrato (1:1)	Primeira	29,53	66,25	4,56
	Segunda	136,16	310,33	29,70
	Terceira	310,33	557,97	27,13
	Quarta	719,11	888,55	11,06
Metilparabeno + Propilparabeno	Primeira	31,89	57,95	1,66
	Segunda	127,86	230,95	96,48
Metilparabeno + Propilparabeno + Extrato (1:1:2)	Primeira	29,52	66,25	2,58
	Segunda	132,60	257,01	63,97
	Terceira	257,01	471,47	16,67
	Quarta	722,67	890,92	2,376

Tabela 7 - Dados das curvas DSC do extrato nebulizado, agentes conservantes e misturas binárias.

Amostra	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)
EPN	25,93	3,89	25,06 – 28,57	61,32	131,1	30,42 – 106,91	196,97	70,43	171,30 – 220,77	294,27	74,67	220,77 – 354,07
Nipagin	127,20	240,7	121,76 – 132,66	223,94	298,2	181,95 – 230,30	-	-	-	-	-	-
Nipazol	98,46	123,4	90,40 – 104,83	331,45	174,5	331,94 – 341,27	-	-	-	-	-	-
Nipagin + nipazol	88,58	88,11	81,14 – 98,68	124,53	55,16	109,39 – 130,52	239,00	44,67	211,40 – 244,15	263,88	255,8	245,29 – 274,06
Benz. de sódio	32,25	6,95	30,42 – 46,34	389,43	5,78	383,02 – 397,50	-	-	-	-	-	-
Ác. benzóico	125,98	338,5	123,24 – 133,10	303,36	750,3	302,93 – 311,65	-	-	-	-	-	-
EPN + Nipagin	56,78	69,13	32,66 – 79,58	122,61	54,44	100,44 – 129,35	243,89	107,1	213,71 – 291,44	-	-	-
EPN + Nipazol	98,21	120,7	87,64 – 105,17	272,06	245,6	225,56 – 304,71	-	-	-	-	-	-
EPN + Nipagin + Nipazol	95,34	56,37	82,43 – 105,17	239,84	27,84	221,36 – 245,06	253,00	61,84	245,06 – 289,79	-	-	-
EPN + Benz. de sódio	68,84	144,5	31,71 – 105,65	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EPN + Ác. benzóico	124,14	104,6	100,44 – 131,24	213,48	385,3	142,62 – 244,99	-	-	-	-	-	-

Figura 6 – Curvas de TG e DSC do extrato de *A. pyriformium* Mart., cossolventes e misturas binárias. (A) Curvas TG de Glicerina, (B) Curvas DSC de Glicerina, (C) Curvas TG de Propilenoglicol, (D) Curvas DSC de Propilenoglicol, (E) Curvas TG de Sorbitol, (F) Curvas DSC de Sorbitol.



Na curva TG referente à glicerina (Figura 6A), com o excipiente isolado, foram observadas três etapas de decomposição. Na mistura binária o número de etapas se repetiu com temperaturas que se assemelhavam ao excipiente e ao extrato nas duas primeiras etapas. A última delas apresentou temperaturas que diferiram um pouco mais de ambos.

A curva de DSC da glicerina (Figura 6B) apresentou um forte evento endotérmico em 290,01 – 326,03, com pico em 316,51 °C, o que não foi detectado na mistura binária produzido, com glicerina. Nessa mistura foram observados dois picos endotérmicos, sendo o

primeiro, provavelmente correspondente ao retardamento da segunda transição de fase presente no extrato, e o segundo ao retardamento do pico endotérmico da glicerina.

A Figura 6C, com a curva TG do propilenoglicol, demonstrou que o excipiente teve sua decomposição em uma única etapa, quando sozinho. Quando em mistura com o extrato apresentou três etapas. Sendo que a primeira delas contemplou as temperaturas de ambas as amostras. As etapas seguintes apresentaram maiores características do extrato de *A. pyrifolium* Mart.

Na curva DSC do propilenoglicol foi observado dois picos endotérmicos o primeiro em 170,91 e o segundo em 190,29, os quais provavelmente correspondem ao seu processo de transição de fase do excipiente. A mistura 1:1 com Propilenoglicol demonstra a compatibilidade entre o extrato e este excipiente, uma vez que os eventos que ocorrem às temperaturas de 76,08 °C, provavelmente está relacionado ao retardamento da segunda transição de fase observada no extrato, que foi de 61,32 °C.

Tabela 7 - Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, cossolventes e mistura binária.

Amostras	Etapas de decomposição	Início (°C)	Final (°C)	Perda (%)
Extrato nebulizado	Primeira	30,22	143,68	3,11
	Segunda	146,20	283,68	27,95
	Terceira	321,52	510,72	23,71
	Quarta	616,67	891,11	4,169
Glicerina	Primeira	24,78	120,75	6,60
	Segunda	120,75	232,13	98,80
	Terceira	232,13	892,10	11,94
Glicerina + Extrato	Primeira	33,07	95,87	6,03
	Segunda	95,87	277,16	53,46
	Terceira	277,16	890,78	20,62
Propilenoglicol	Primeira	55,59	151,56	98,14
Propilenoglicol + Extrato	Primeira	33,07	168,15	56,28
	Segunda	168,15	560,34	26,66
	Terceira	560,34	889,73	7,00
Sorbitol	Primeira	23,67	180,00	26,29
	Segunda	242,79	356,54	65,34
Sorbitol + Extrato	Primeira	31,89	124,31	14,32
	Segunda	170,52	343,51	55,79
	Terceira	343,51	632,62	9,71

Tabela 8 - Dados das curvas DSC do extrato nebulizado, agentes cossolventese misturas binárias.

Amostra	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)
EPN	25,93	3,89	25,06 – 28,57	61,32	131,1	30,42 – 106,91	196,97	70,43	171,30 – 220,77	294,27	74,67	220,77 – 354,07
Glicerina	316,51	2279	290,01 – 326,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Propilenoglicol	170,98	18,17	170,50 – 175,98	190,29	1282	193,12 – 202,15	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	145,04	645,4	139,77 – 188,12	374,87	155,4	343,16 – 392,92	-	-	-	-	-	-
EPN +Glicerina	86,37	86,49	74,37 – 136,46	250,75	661,6	175,79 - 293,33	-	-	-	-	-	-
EPN + Propilenoglicol	76,08	275,8	30,29 – 106,60	142,83	162,3	106,60 – 177,69	-	-	-	-	-	-
EPN + Sorbitol	117,42	274,4	67,69 – 166,22	210,07	38,30	171,08 – 227,10	301,81	346,7	227,09 - 345,01	-	-	-

Em estudo realizado por NUNES (2008), as curvas TG da mistura binária propilenoglicol/extrato liofilizado de *Calendula officinalis* L. apresentaram duas etapas de decomposição. Na primeira etapa ocorreu uma perda de massa de 73,49% no intervalo de 25,00 a 188,00 °C. O segundo intervalo entre 188,00 e 600,00 °C foi observado um percentual de perda de massa de 18,33%. Os resultados indicaram um aumento na estabilidade térmica da mistura, já que na análise termogravimétrica desse excipiente isolado foi observado um percentual de perda de massa de 99,05%, no intervalo de 25 a 140 °C, indicando que a mistura entre o propilenoglicol e extrato liofilizado foi compatível.

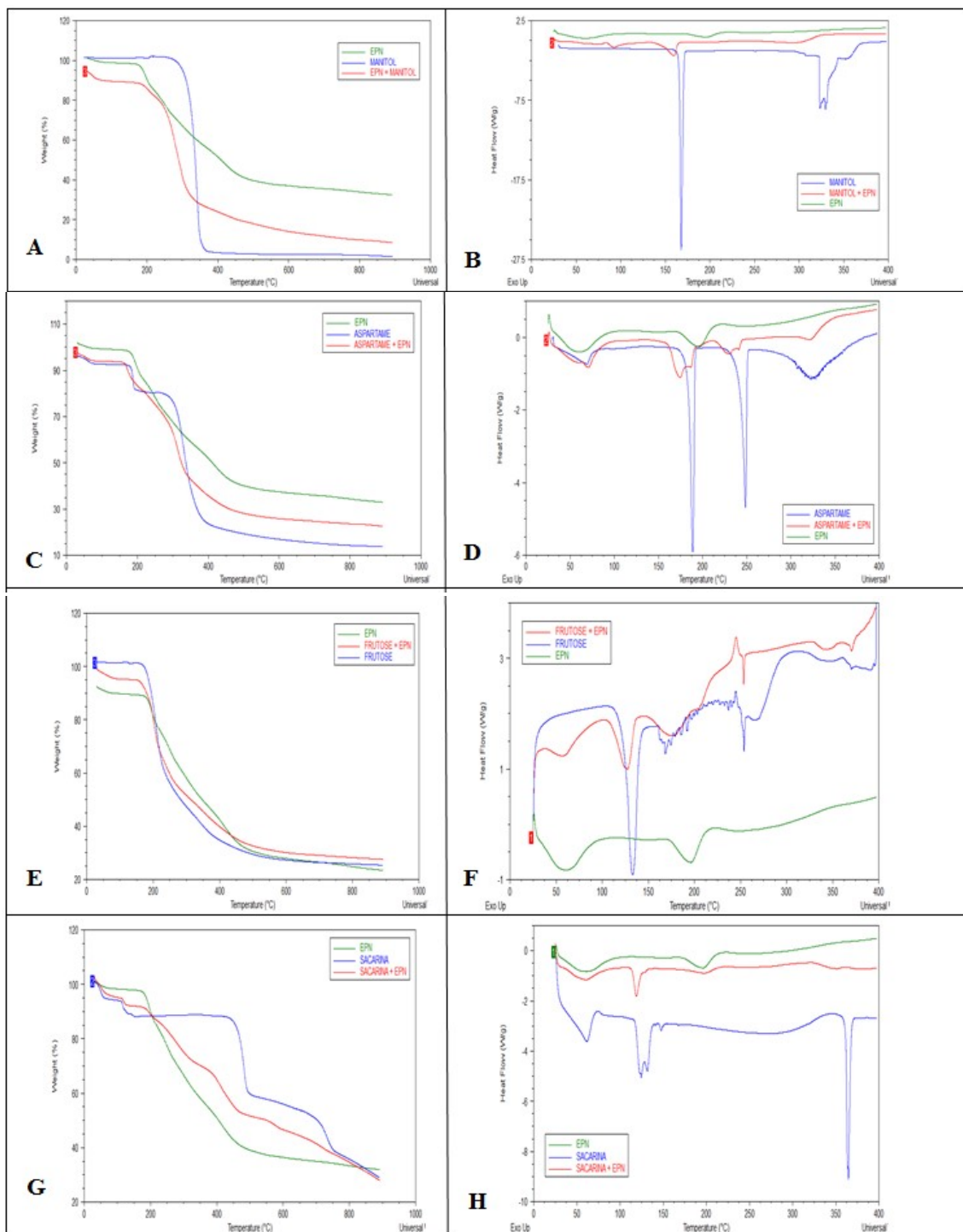
Nas curvas TG referentes ao sorbitol (Figura 6E), o excipiente apresentou duas etapas de decomposição, o extrato teve sua decomposição em quatro etapas e a mistura binária resultante apresentou apenas três eventos. O primeiro apresentou temperaturas mais próximas das características do extrato nebulizado. As etapas seguintes apresentaram maiores divergências sugestivas de incompatibilidade.

A curva DSC do sorbitol apresentou um pico endotérmico em 145,04 e 374,87 °C, e a mistura binária apresentou três picos referente aos processos de transições de fases da amostra, sendo o primeiro em 117,42 °C, provavelmente relacionados a perda de umidade da amostra e o último relacionado a sua decomposição final em 301,81 °C (Figura 6F).

Ramos e Cavalheiro (2008) avaliaram o comportamento do sorbitol juntamente com a loratadina. Nas curvas DSC do anti-histamínico observou-se um evento endotérmico a 134,3 °C, correspondente à fusão do fármaco, com valor de entalpia de 77,3 J.g⁻¹. Nas curvas DSC correspondentes às misturas do fármaco com os excipientes observou-se que os eventos térmicos do anti-histamínico e dos excipientes citados permaneceram nas mesmas temperaturas em que ocorrem nas curvas DSC das espécies puras. Sem ocorrência de eventos adicionais, o resultado foi sugestivo de não ocorrência de interação entre o fármaco e os adjuvantes como o sorbitol. Houve a alteração no valor da entalpia de fusão da loratadina de 77J.g⁻¹ para 37 J.g⁻¹ quando associado aos excipientes na mistura física.

As curvas presentes na Figura 7 demonstram as análises dos edulcorantes analisados, manitol, aspartame, frutose e sacarina.

Figura 7 – Curvas de TG e DSC do extrato de *A. pyrifolium* Mart., edulcorantes e misturas binárias: (A) Curvas TG de Manitol, (B) Curvas DSC de Manitol, (C) Curvas TG de Aspartame, (D) Curvas DSC de Aspartame, (E) Curvas TG de Frutose, (F) Curvas DSC de Frutose, (G) Curvas TG de Sacarina, (H) Curvas DSC de Sacarina.



A Figura 7A demonstra a análise TG da mistura manitol + EPN, o excipiente apresentou sua decomposição em apenas uma etapa, a sua mistura binária do mesmo com o extrato apresentou três etapas de decomposição. As temperaturas de cada etapa diferem muito, sugerindo incompatibilidade.

Na curva de DSC do manitol foi observado que dois picos endotérmicos, sendo o primeiro referente ao seu processo de fusão, que ocorreu em 167,76 °C, o qual é compatível com o descrito na literatura científica, pois segundo o Merck Index (2013), o manitol apresenta ponto de fusão em 166,00 a 168,00 °C. E o segundo a degradação da amostra em 323,39 °C. Na mistura produzida com este excipiente foi observado que os picos endotérmicos encontrados na figura foram antecipados para uma temperatura mais baixa, sugerindo possível incompatibilidade (Figura 7B).

A curva termogravimétrica do aspartame apresentou três etapas de decomposição térmica, tendo seu processo de decomposição iniciado em 166,96 °C, com perda de massa de 10,54 %. E suas misturas binárias apresentaram cinco etapas, sendo o seu processo de decomposição iniciado em 155,51 °C, com perda de massa de 10,11% (Figura 7C).

A curva DSC do aspartame apresentou quatro etapas de transição de fases, sendo a terceira referente ao processo de fusão do excipiente, que ocorreu em 248,53 °C. Segundo Merck Index (2013), o manitol possui ponto de fusão em 246,00 a 267,00 °C. Na curva da mistura binária aspartame + EPN, o primeiro evento foi registrado em 71,19 °C, correspondendo à etapa de perda de água da amostra e o terceiro em 230,80 °C, que provavelmente correspondeu a antecipação do pico de fusão do excipiente (Figura 7D).

O aspartame apresenta estabilidade apreciável em condições de aquecimento. No estado sólido. É uma substância estável não apresentando decomposição significativa (SOUZA; YU & PINTO, 2006).

A curva da TG da frutose apresentou apenas duas etapas de degradação, sendo a primeira iniciada em 149,19 °C, com perda de massa de 44,47%. Enquanto que, a mistura apresentou três etapas, com início do processo de decomposição em 151,56 °C, com perda de massa de 39,62 % (Figura 7E),

A curva DSC da frutose constatou três processos principais de transições de fases e a mistura binária quatro. Essa mistura demonstra possui compatibilidade entre o extrato e o excipiente, uma vez que esses eventos ocorrem em temperaturas próximas (Figura 7F).

Na análise da curva TG da sacarina foi possível constatar a antecipação e subdivisão dos eventos ocorrentes no excipiente quando isolado. Ao analisá-lo juntamente com o extrato se observou uma variação nas faixas de temperatura, além do aparecimento de uma sexta

etapa na decomposição da mistura. A sacarina isolada apresentou cinco eventos e o extrato quatro. Além da antecipação foi possível visualizar a ocorrência de eventos de decomposição consecutivos na mistura extrato-excipiente (Figura 7G).

A curva DSC da sacarina apresentou três picos endotérmicos se verificou que o primeiro evento não sofreu alterações significativas quanto à faixa de temperatura, ressaltando que, na mistura, prevaleceu a temperatura *endset* do extrato neste evento, pois a faixa do mesmo foi de 35,03 a 106,60 °C. O segundo evento do extrato (169,63 a 220,34 °C) prevaleceu na mistura com pequenas alterações nos valores, a faixa encontrada na mistura foi de 166,31 a 218,92 °C. Porém, a sacarina isolada apresentou eventos que ocorreram nas faixas 115,60 a 139,77 °C que na mistura corresponde ao evento que aconteceu na faixa de 106,60 a 136,46 °C. Outro evento ocorrido na sacarina variou de 354,47 a 371,53 °C, porém na mistura não foi detectado, como pode ser observado no gráfico.Figura 7 (H),

As Tabelas 8 e 9 mostram os dados de TG e DSC referentes as temperaturas e percentuais de perda de massa obtidos.

Os excipientes considerados compatíveis após a triagem por análise térmica foram: Fosfato de Sódio Dibásico, EDTA, Ácido Lipóico, Nipagin[®] (metilparabeno), Nipazol[®] (propilparabeno), Nipagin[®] + Nipazol[®], Benzoato de Sódio, Glicerina, Propilenoglicol e Frutose.

Há uma ressalva quanto ao uso do EDTA, já que o mesmo atua como agente quelante (ROWE et al., 2009), não seria muito indicado seu uso devido a possibilidade de formação de complexos estáveis podendo ocasionar variações na concentração dos componentes da formulação.

Já os excipientes que apresentaram incompatibilidade foram: Ácido Cítrico, Metabissulfito de Sódio, Ácido Ascórbico, Ácido Benzóico, Sorbitol, Manitol, Aspartame e Sacarina.

Tabela 8 -Dados das curvas TG referentes às etapas de decomposição do extrato nebulizado, agentes edulcorantes e mistura binária.

Amostras	Etapas de decomposição	Início (°C)	Final (°C)	Perda (%)
Extrato nebulizado	Primeira	30,22	143,68	3,11
	Segunda	146,20	283,68	27,95
	Terceira	321,52	510,72	23,71
	Quarta	616,67	891,11	4,169
Aspartame	Primeira	25,24	70,99	3,59
	Segunda	166,96	194,21	10,54
	Terceira	260,57	428,82	58,59
Aspartame + Extrato	Primeira	30,07	66,23	3,35
	Segunda	155,51	199,00	10,11
	Terceira	199,00	340,93	39,05
	Quarta	340,93	517,20	16,83
	Quinta	590,45	890,33	3,45
Frutose	Primeira	149,19	247,53	44,47
	Segunda	247,53	573,37	29,28
Frutose + Extrato	Primeira	30,70	84,02	3,62
	Segunda	151,56	271,23	39,62
	Terceira	271,23	552,05	24,32
Manitol	Primeira	267,68	370,76	96,91
Manitol + Extrato	Primeira	30,70	69,80	4,46
	Segunda	170,52	341,14	59,98
	Terceira	341,14	890,54	20,35
Sacarina	Primeira	31,89	65,06	6,43
	Segunda	105,35	153,93	5,84
	Terceira	427,63	499,91	28,32
	Quarta	499,91	752,29	20,80
	Quinta	752,29	888,55	9,96
Sacarina + Extrato	Primeira	30,84	91,13	7,02
	Segunda	108,90	131,42	2,70
	Terceira	169,33	331,66	20,25
	Quarta	331,66	484,51	19,23
	Quinta	484,51	610,10	6,10
	Sexta	610,10	890,46	18,15

Tabela 9 - Dados das curvas DSC do extrato nebulizado, edulcorantes e misturas binárias.

Amostra	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)	Temperatura do pico (°C)	ΔH (J/g)	$T_{onset/endset}$ (°C)
EPN	25,93	3,89	25,06 – 28,57	61,32	131,10	30,42 – 106,91	196,97	70,43	171,30 – 220,77	294,27	74,67	220,77 – 354,07
Manitol	167,76	465,40	157,86 – 173,47	329,40	323,39	300,30 – 368,85	-	-	-	-	-	-
Aspartame	69,07	51,12	36,93 – 83,37	188,81	175,80	171,53 – 193,33	248,53	164,7	223,66 – 252,57	328,32	209,8	280,06 – 370,59
Frutose	132,34	202,4	110,86 – 146,41	168,47	66,94	161,67 – 211,91	253,92	109,0	249,73 – 298,07	-	-	-
Sacarina	60,51	91,49	31,24 – 100,91	118,91	50,66	110,39 – 137,40	198,95	29,25	165,84 – 219,87	-	-	-
EPN +Manitol	92,84	35,24	84,80 – 109,44	159,96	122,5	135,03 – 167,26	303,08	116,7	255,42 – 326,98	-	-	-
EPN + Aspartame	71,19	121,5	31,71 – 99,01	173,71	101,1	155,89 – 191,91	230,80	39,87	214,18 – 246,89	324,80	27,20	307,55 – 349,26
EPN + Frutose	61,86	46,05	41,36 – 100,12	127,64	85,39	104,29 – 138,03	177,81	66,99	149,78 – 200,58	244,82	4,42	239,62 – 250,24
EPN + Sacarina	57,78	90,34	33,13 – 74,84	119,42	79,51							

Os resultados da análise térmica foram confirmados com o auxílio do NIR. As substâncias foram novamente agrupadas de acordo com sua função. O espectro no infravermelho de um composto químico é considerado uma de suas propriedades físico-químicas mais características e, por conta disto, este tipo de espectroscopia tem extensa aplicação na identificação de compostos (SILVERSTEIN et al. 2006).

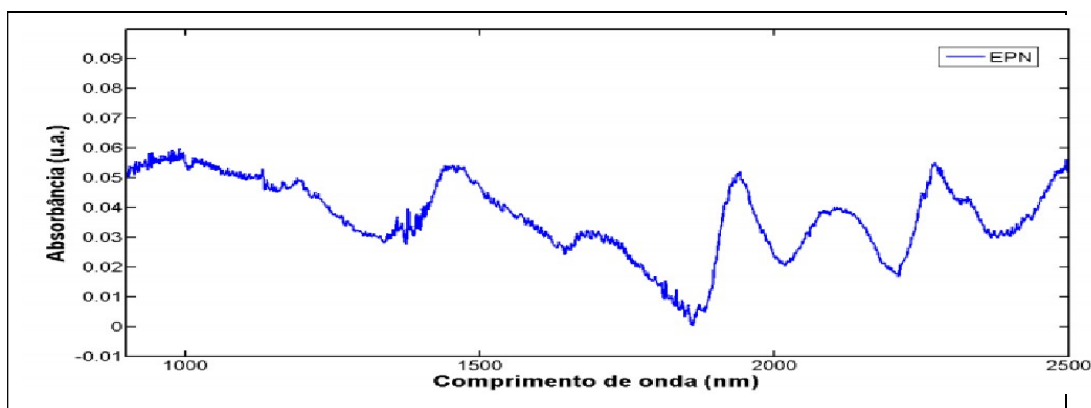
É preciso verificar se as características de determinado composto são mantidas, quando ele está inserido em uma formulação. Por isso, a importância de se realizar uma triagem por NIR dos excipientes e extrato envolvidos nessa pré-formulação. Os espectros de NIR devem ser um somatório das curvas de cada componente da mistura ativo-excipiente (TITA et al., 2011).

Extratos de plantas medicinais apresentam composição complexa, dificultando a visualização dessas possíveis interações, principalmente nos estudos por análise térmica (COSTA et al., 2013). Dessa forma, a aplicação da quimiometria, para melhor interpretação dos resultados, pode complementar as informações dos estudos de compatibilidade (WESOŁOWSKI; ROJEK, 2013).

A Análise dos componentes principais (PCA) é uma técnica simples e utilizada em vários estudos associado a técnicas analíticas. Um exemplo de sua aplicação foi à classificação de comprimidos contendo dipirona, cafeína e citrato de orfenadrina após o uso da espectroscopia no infravermelho próximo (MELO et al., 2013).

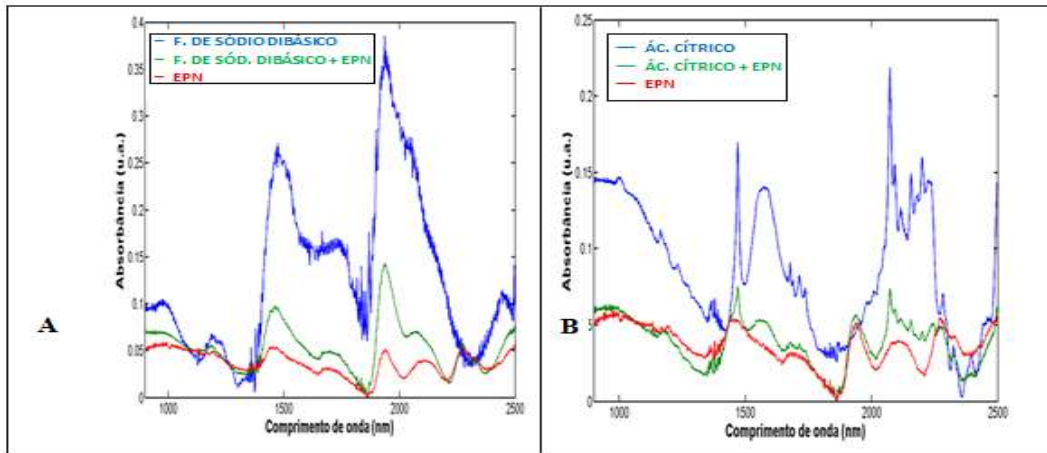
A Figura 8 demonstra o espectro de NIR do extrato de *A. pyrifolium*. É possível verificar a existência de picos ao longo do espectro. Um pico discreto aparece na faixa dos 1200 nm, outros entre 1300 a 1400 nm. Foram ainda observados, os seguintes picos: entre 1600 e 1650 nm; entre 1850 e 1900 nm; entre 2000 e 2050 nm; entre 2200 e 2250 nm; entre 2350 e 2400 nm.

Figura 8 – Espectro em NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart.



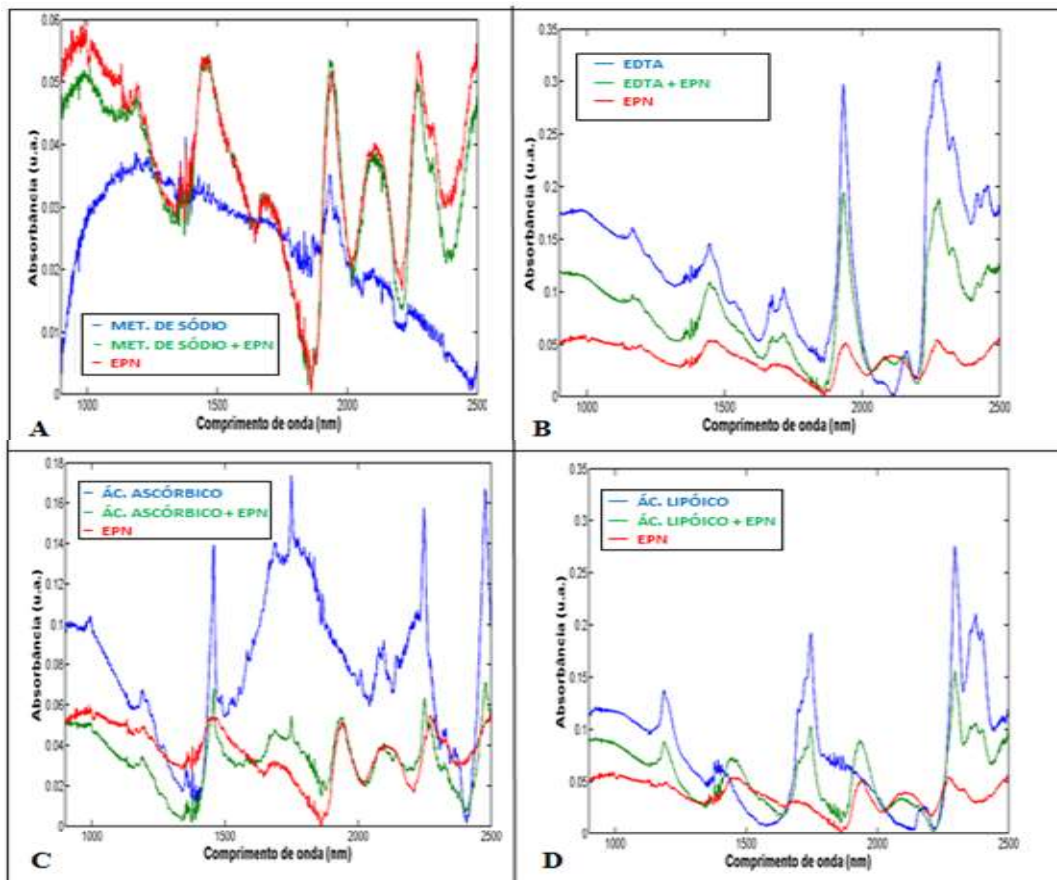
A Figura 9 demonstra os espectros obtidos do extrato de *A. pyrifolium* Mart. e dos excipientes com função tamponante, e o espectro referente à mistura 1:1 extrato – excipiente.

Figura 9 – Espectros de NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes tamponantes e mistura binária 1:1. (A) Fosfato de Sódio Dibásico, (B) Ácido Cítrico.



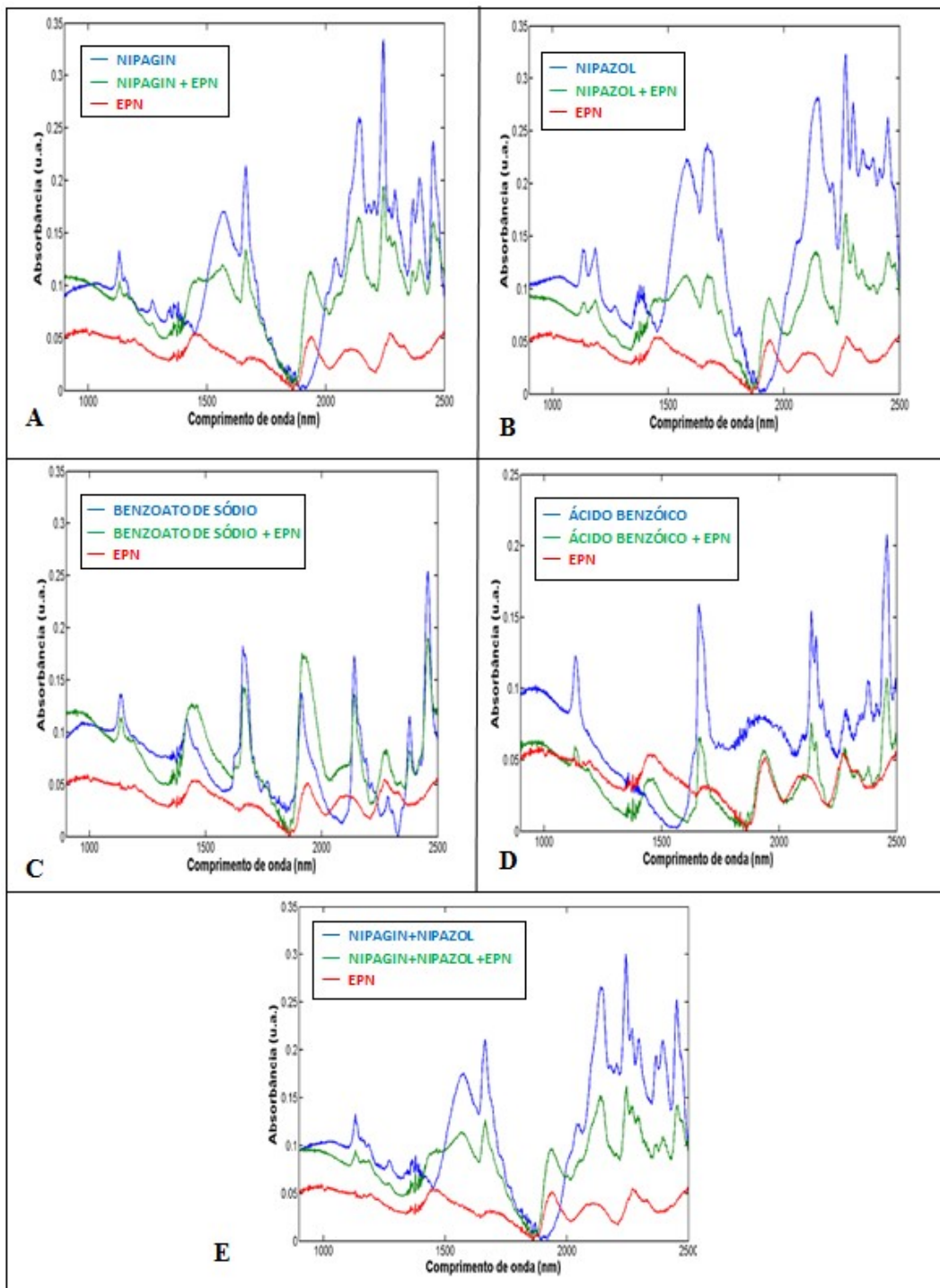
A Figura 10 demonstra espectros referentes aos agentes antioxidantes testados

Figura 10 – Espectros de NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes oxidantes e mistura binária 1:1. (A) Metabissulfito de Sódio, (B) EDTA, (C) Ácido Ascórbico, (D) Ácido Lipóico.



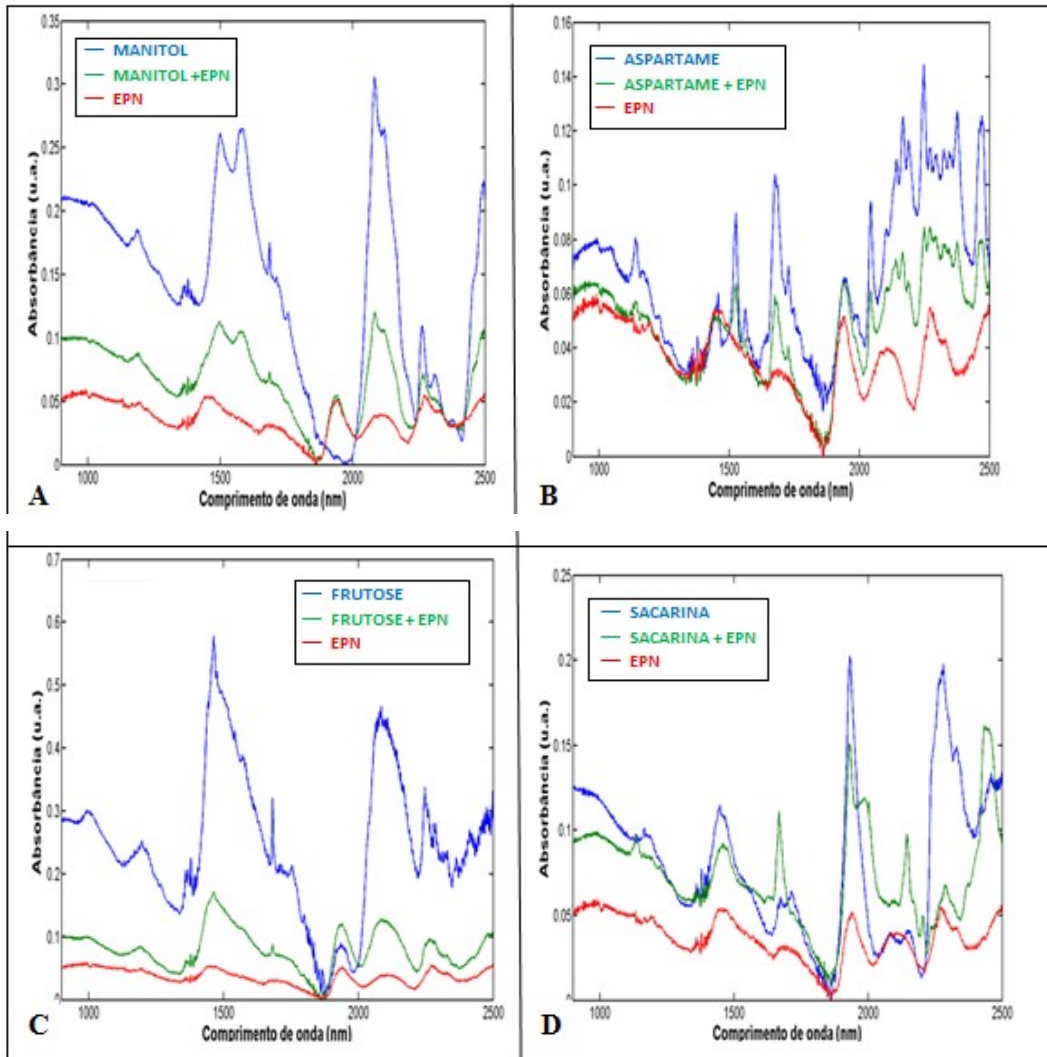
Dentre os conservantes mais utilizados, foi testado o Nipagin[®] (Metilparabeno), o Nipazol[®] (Propilparabeno), a mistura binária 1:1 Nipagin[®]+ Nipazol[®], o Ácido Benzoico e o Benzoato de Sódio. A Figura 11 traz seus espectros em NIR.

Figura 11 – Espectros de NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes conservantes e misturas binárias. (A) Nipagin[®], (B) Nipazol[®], (C) Benzoato de Sódio, (D) Ácido Benzóico, (E) Nipagin[®]+Nipazol[®].



A Figura 12 mostra os espectros em NIR dos edulcorantes utilizados neste estudos.

Figura 12 – Espectros de NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes edulcorantes e misturas binárias. (A) Manitol, (B) Aspartame, (C) Frutose, (D) Sacarina.



O NIR, apesar de ser utilizado para identificação de compostos, quantificação e comportamento de substâncias em mistura numa formulação, apresenta faixa espectral que impossibilita a identificação de possíveis ligações químicas do composto analisado, apesar de demonstrá-las (CAMELO, 2010). A partir dos espectros NIR obtidos foi realizado o estudo de compatibilidade extrato-excipiente utilizando técnicas de reconhecimento de padrões não supervisionados e supervisionados, o que propiciou uma conclusões condizentes mesmo não realizando a identificação das ligações.

Para concluir a interpretação gráfica do NIR, para o estudo de pré-formulação dos excipientes sólidos, fez-se uso de ferramentas disponibilizadas pelo software *The Unscrambler 9.7*. Primeiramente, realizou-se a Análise de Componentes Principais (PCA), mas que não proporcionou um Gráfico PCA que possibilitasse a leitura conclusiva dos excipientes sólidos, classificando-os em compatíveis ou incompatíveis. Diante disso, uma leitura supervisionada de informações foi realizada por meio da geração de uma tabela com método de classificação SIMCA (*Soft Independent Modeling by Class Analogy*), para confirmar informações sobre esses excipientes.

Os espectros de NIR obtidos foram convertidos em dados quimiométricos e os excipientes foram classificados, de acordo com a compatibilidade ou incompatibilidade frente ao extrato utilizado (SABIN et al., 2004). A Tabela 10 demonstra tal interpretação. Cada asterisco representa um scan feito na amostra pelo NIR. A análise foi realizada em quintuplicata.

Apesar de alguns desvios de interpretação, os resultados obtidos após interpretação da tabela não diferiram daqueles obtidos pela análise térmica. O extrato nebulizado, sendo a substância em confronto, foi classificado, de acordo com a metodologia SIMCA, como compatível e incompatível, sendo marcado nas duas colunas da Tabela 10.

Alguns desvios foram observados na classificação dos excipientes quando analisada a mistura binária. Foi o caso das misturas do extrato com os excipientes considerados incompatíveis, tais misturas foram classificadas como compatíveis e incompatíveis, simultaneamente. A provável causa pode ter sido a presença do extrato nebulizado que ocasionou confusões no tratamento de dados.

Alguns excipientes também apresentaram desvios quando analisados isoladamente. Foi o ocorrido com o ácido benzóico, cinco scans foram considerados incompatíveis pela metodologia SIMCA. Porém, quatro scans do excipiente foram considerados compatíveis. O fato pode estar relacionado com a semelhança de estrutura química já que o benzoato de sódio é um sal derivado do ácido benzóico (LUÍS et al., 2014). Sendo o sal considerado compatível de acordo com os resultados da análise térmica e do NIR.

O metabissulfito de sódio apresentou classificação duvidosa já que cinco scans foram considerados compatíveis e outros cinco, incompatíveis. Quanto a este excipiente não foi possível obter uma condição mais precisa sobre sua compatibilidade ou não frente ao extrato de *A. pyrifolium* Mart.

Tabela 10 – Tratamento Supervisionado SIMCA dos excipientes sólidos (scans = 5).

Amostras	SIMCA - Incompatíveis	SIMCA - Compatíveis
EPN	*****	*****
Ácido Ascórbico	*****	
Ácido Benzoico	*****	****
Ácido Cítrico	*****	
Aspartame	*****	**
Sacarina	*****	
Sorbitol	*****	
Manitol	*****	
Metabissulfito de Sódio	*****	*****
EPN + Ácido Ascórbico	*****	*****
EPN + Ácido Benzoico	*****	*****
EPN + Ácido Cítrico	*****	*****
EPN + Aspartame	*****	*****
EPN + Sacarina	*****	*****
EPN + Sorbitol	*****	*****
EPN + Manitol	*****	****
EPN + Met. de Sódio	*****	*****
Ácido Lipóico		*****
Benzoato de Sódio		*****
EDTA		*****
Frutose		*****
Fosfato de Sódio Dibásico		**
Nipagin		*****
Nipagin+Nipazol		*****
Nipazol		*****
EPN + Ácido Lipóico		*****
EPN + Benzoato de Sódio		*****
EPN + EDTA		*****
EPN + Frutose	*	*****
EPN + Fosf. de Sódio Dibásico	**	*****
EPN + Nipagin		*****
EPN + Nipagin+Nipazol		*****
EPN + Nipazol		*****

O aspartame apresentou alguns scans considerados compatíveis, mas, por serem em pequeno número, não interferiram na sua classificação como incompatível. Fato semelhante ocorreu com a frutose e com o fosfato de sódio dibásico. Alguns scans referentes à mistura binária de ambos com o extrato os classificaram como incompatíveis. Mas isto pode ser

justificado por causa da presença do extrato nebulizado na mistura e, ainda assim, não foi um desvio significativo para comprometer a classificação destes excipientes como compatíveis.

Com os resultados da metodologia SIMCA, foi possível ratificar a compatibilidade dos excipientes vista pela análise térmica. Tanto os excipientes isolados como as misturas binárias dos mesmos, não apresentaram discordâncias significativas depois de gerada a tabela.

A segurança no uso da metodologia SIMCA pode ser comprovada pelos estudos realizados por Sabin et al. (2004), no qual classificou corretamente amostras contendo diferentes fármacos antidepressivos, realizando o controle da qualidade dos mesmos, fato que seria dificilmente visualizado diretamente na matriz dos dados, ou seja, no conjunto dos espectros. Este trabalho demonstrou que compostos com mesma ação farmacológica e estruturas químicas muito semelhantes podem ser facilmente diferenciados e identificados.

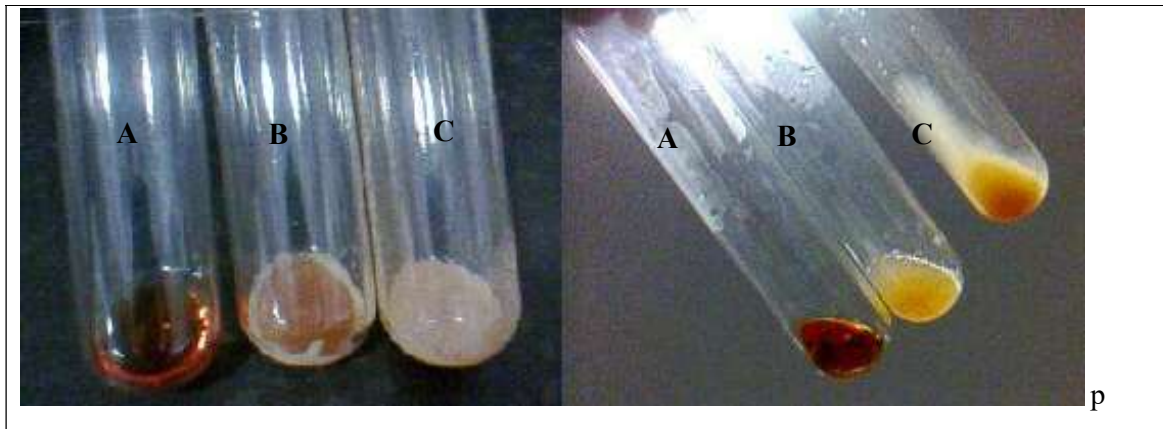
Ao analisar os cossolventes (Propilenoglicol, Sorbitol e Glicerina), suas curvas demonstraram as características das substâncias quando isoladas e misturadas. Quando juntos ao extrato, por serem cossolventes, deveriam apresentar bom aspecto visual e boas características de dissolução do extrato vegetal nebulizado.

O aspecto foi avaliado através do teste de solubilidade realizado com 25 mg de extrato nebulizado e 1 mL de cada cossolvente, medidas que simularam a proporção extrato-excipiente de uma formulação com concentração de 25 mg.mL⁻¹. A Figura 13 demonstrou os resultados para o teste de solubilidade do propilenoglicol, sorbitol e glicerina. Após realização desse teste foi possível averiguar a afinidade existente entre o propilenoglicol e o extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart., fato perceptível pelo bom aspecto visual gerado. O sorbitol, apesar de considerado incompatível pelos estudos térmicos, apresentou melhor aspecto visual que a glicerina. Esta, considerada compatível com o extrato de acordo com resultados da análise térmica, apresentou baixa solubilidade quanto ao extrato em questão.

Para confrontar os resultados obtidos pela análise térmica e pelo teste de solubilidade. Os excipientes e extrato foram submetidos ao NIR. A Figura 14 demonstra o perfil das três substâncias com ação cossolvente.

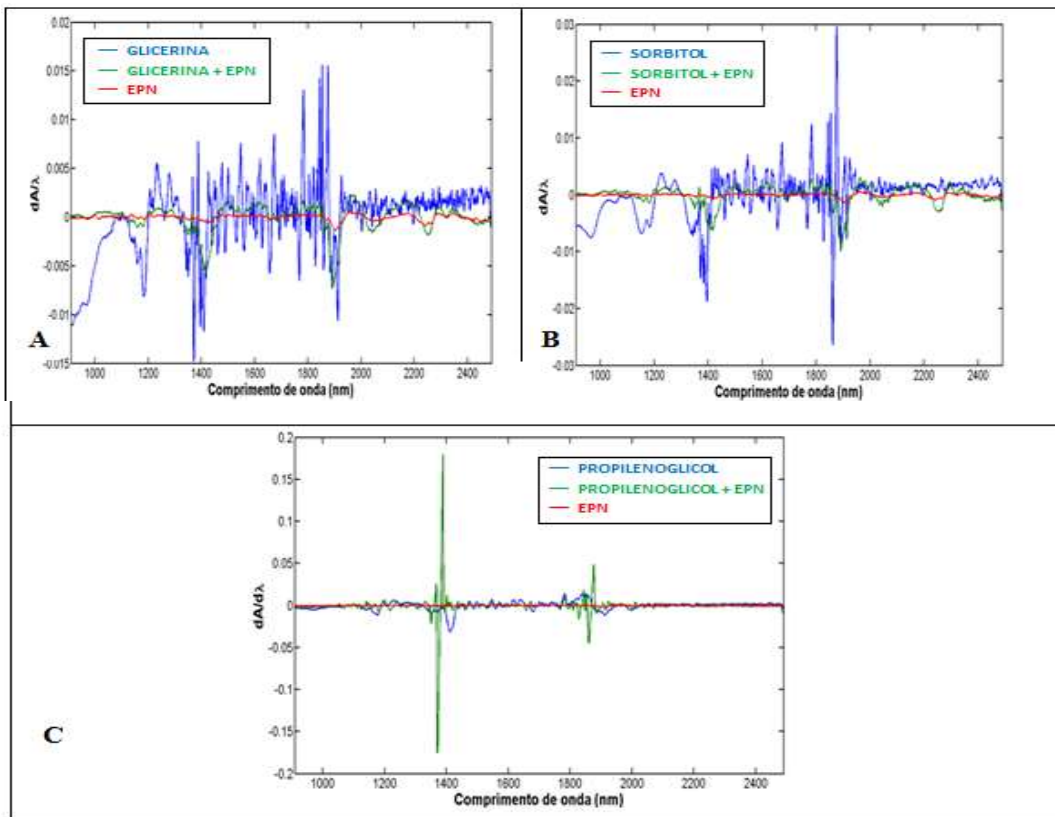
Na impossibilidade de obter conclusões mais convictas a partir das curvas espectrais no infravermelho próximo, fez-se uso de ferramentas como a construção do gráfico PCA (Análise por Componentes Principais) que foi suficiente para concluir a classificação dos excipientes.

Figura 13 – Teste de solubilidade para os cossolventes. (A) Propilenoglicol, (B) Sorbitol e (C) Glicerina.



Fonte: Arquivo pessoal.

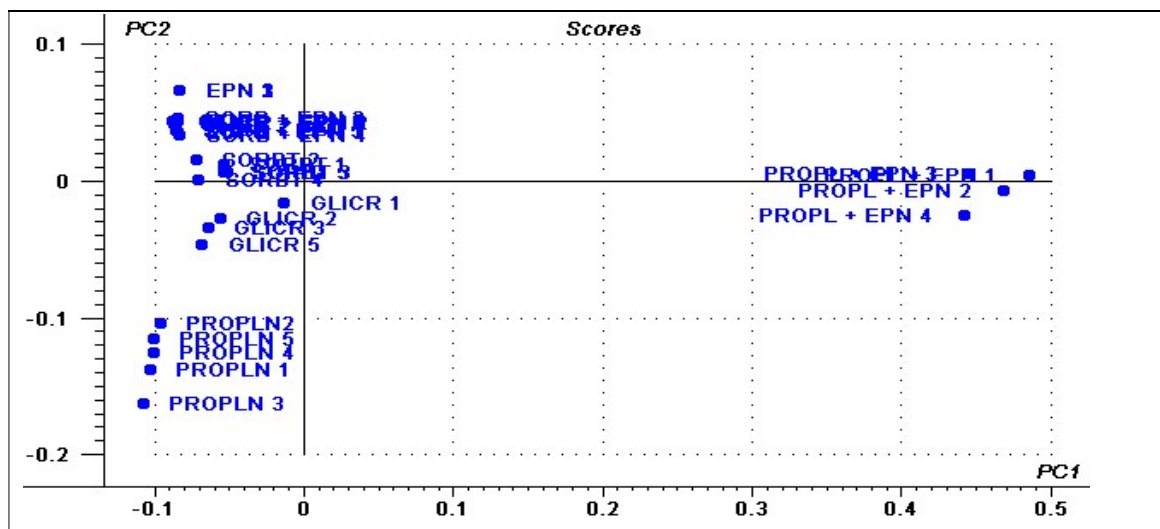
Figura 14 - Espectros de NIR do extrato de *A. pyrifolium* Mart., agentes cossolventes e misturas binárias. (A) Glicerina, (B) Sorbitol, (C) Propilenoglicol.



A Figura 15 traz o gráfico PCA referente aos dados do NIR, dos excipientes líquidos e respectivas misturas binárias com o extrato nebulizado. Neste caso, significa que os dados

foram projetados nas direções (ou eixos) perpendiculares do espaço multidimensional, contendo maior quantidade de informações (variância máxima), consistindo no tratamento dos dados e obtendo novas variáveis, que são combinações das variáveis originais, apresentando ortogonalidade entre si (VERAS et al., 2012).

Figura 15: Gráfico PCA dos excipientes líquidos e EPN.



A partir do gráfico PCA construído, pode-se visualizar a proximidade dos pontos referentes à Glicerina, Sorbitol, extrato de *A. pyrifolium* Mart. e respectivas misturas binárias. Todos localizados no quadrante superior esquerdo, com os pontos referentes à Glicerina um pouco abaixo. A organização espacial próxima dos grupamentos no gráfico sugere interação extrato-excipiente (WESOLOWSKI et al., 2012). A glicerina foi considerada compatível pela análise térmica, enquanto que o sorbitol não. No teste de solubilidade, ambos não apresentaram bom aspecto visual quando em conjunto com o extrato nebulizado da planta.

Os pontos referentes ao propilenoglicol tratado isoladamente, encontram-se um pouco afastados, no quadrante inferior esquerdo, demonstrando que suas características quimiométricas são diferentes dos outros cossolventes testados. A mistura Propilenoglicol-EPN teve seus pontos localizados na extrema direita do gráfico PCA, sugerindo que este excipiente em conjunto com o extrato de *A. pyrifolium* Mart. apresenta características bem diferentes das misturas do extrato com os outros excipientes, fato corroborado pelo teste de solubilidade.

4. CONCLUSÃO

O extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. foi obtido e caracterizado. As técnicas termoanalíticas e de infravermelho próximo apresentaram-se úteis na identificação de incompatibilidades entre excipientes farmacêuticos e insumos complexos como o extrato de *A. pyrifolium* Mart. Com os resultados obtidos foi possível sugerir os excipientes farmacêuticos capazes de compor uma formulação líquida sem indícios de desvios nas funções dos excipientes e propriedades do extrato vegetal. Os excipientes que apresentaram melhores características de compatibilidade para compor a solução oral foram: Fosfato de Sódio Dibásico, EDTA, Ácido Lipóico, Nipagin (Metilparabeno), Nipazol (Propilparabeno), Nipagin+ Nipazol, Benzoato de Sódio, Propilenoglicol e Frutose.

Diante do exposto, reforça-se a importância do estudo de pré-formulação no desenvolvimento de um medicamento. Através da realização de estudos desse cunho, tornou-se possível à otimização do processo de formulação de uma solução de uso oral à base de um insumo ativo vegetal.

5. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, H. Métodos para o Incremento da Solubilidade de Substâncias Activas Pouco Solúveis (BCS – Classe II). Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, 2009.

BHARATE, S. S., BHARATE, S. B. BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. J. Excipients and Food Chem. v.1, 2010.

CALIANDRO, R.; DI PROFIO, G.; NICOLOTTI, O. Multivariate analysis of quaternary carbamazepine-saccharin mixtures by X-ray diffraction and infrared spectroscopy. J Pharma Biomed Anal. v. 5, p. 269 – 279. Elsevier, 2013.

CAMELO, S. R. P. Estudos de Pré-Formulação e Formulação de *Vismiagui anensis* (Aubl.) Choisy. Dissertação de Mestrado. Belém – PA: UFPA, 2010.

COELHO, M. L. Estudos de pré-formulação do fármaco dapsona: desenvolvimento de métodos e avaliação da estabilidade. Dissertação de Mestrado. Teresina – PI: UFPI, 2012.

COSTA, R. S. Estudos de Pré-formulação e Formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae). Dissertação de Mestrado. Belém - PA: UFPA, 2010.

COSTA, S. P. M.; DA SILVA, K. E. R.; DE MEDEIROS, G. C. R.; ROLIM, L. A.; OLIVEIRA, J. F.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; ROLIM NETO, P. J.; Thermal behavior and compatibility analysis of the new chemical entity LPSF/FZ4. Thermochemica Acta. v. 562, n. 01, p. 29-34, 2013.

FERNANDES, F. H. A. Desenvolvimento de forma farmacêutica sólida obtida a partir de extrato seco de *Schinopsis brasiliensis* Engler. Dissertação de Mestrado. Campina Grande – PB: UEPB, 2014.

GIL, E. S.; BRANDÃO, A. L. A. Excipientes: suas Aplicações e Controle Físico-Químico. Pharmabooks, São Paulo, 2007.

GUILLEN, J.S.Q.; BATISTA, I.A.S.A.; MATOS, J.R.M. Contribuição da análise térmica na avaliação do DMAE e seus sais correspondentes e do ácido ascórbico e derivados. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA, 5., Poços de Caldas, 2006. *Livro de resumos*. Poços de Caldas: ABRATEC, 2006a.p.390

GOPINATH, R.; NAIDU, R.A.S. Pharmaceutical Preformulation Studies – Current Review. International Journal of Pharmaceutical and Biological Archive. v. 2, n. 5, p. 1391-1400, 2011.

LUÍS, N. F.; BILÓRIA, J. S.; MASSUIA, G. Q.; CHESCA, A. C.; CUNHA, L. C. S. Teste Microbiológico do Extrato Bruto da Planta *Styrax Ferrugineus*. 8º EnTec – Encontro de Tecnologia da UNIUBE. UNIUBE, 2014.

MELO, C. A. D.; SILVA, P.; GOMES, A. A.; FERNANDES, D. D.; VERAS, G.; MEDEIROS, A. C. D.; Classification of Tablets containing Dipyrone, Caffeine and Orphenadrine by Near Infrared Spectroscopy and Chemometric Tools. *Journal of the Brazilian Chemistry Society*. v. 24, n. 06, p. 991-997, 2013.

NUNES, K.M. Caracterização química e físico-química e estudos preliminares de planejamento da formulação fitoterápica semissólida contendo tintura de *Calendula officinalis* L. Dissertação (mestrado em Ciências Farmacêuticas. Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos) – Universidade Federal do Pará, 2008.

RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T. G. Estudo de compatibilidade do anti-histamínico loratadina com excipientes farmacêuticos por calorimetria exploratória diferencial. Sociedade Brasileira de Química. 31º Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química. Águas de Lindóis – SP, 2008.

RATHORE, A. S.; WINKLE, H. Quality by design for biopharmaceuticals. *Nature biotechnology*, v. 27, p. 26 – 34, 2009.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Pharmaceutical Press, 6.ed. 2009.

SABIN, J. G.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C. Análise multivariada aplicada na identificação de fármacos antidepressivos. Parte II: Análise por componentes principais (PCA) e o método de classificação SIMCA. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. v. 40, n. 3, 2004.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. Editora LTC, 7ªed., 508 pg., 2006.

SLAVIO, H.N.; NOVAK, C.; MATOS, J.R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi-solid pharmaceutical form, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetric*, v. 97, p. 367-374, 2009.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; SOARES DE LA ROCA, M. F.; LOPES, P. Q.; CORREIA, L. P.; SOUZA, F. S.; MACÊDO, R. O.; ROLIM-NETO, P. J. A Preformulation Study of a New Medicine for Chagas Disease Treatment: Physicochemical Characterization, Thermal Stability, and Compatibility of Benznidazole. *AAPS Pharm. Sci. Tech.*, v. 11, p. 1391-1396, 2010.

SOUZA, C.R.F. Standardized dried extracts of Brazilian medicinal plants: assessment of technical and economical feasibility of the spouted bed drying. 2007. 219p. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

SOUZA, E.; YU, L. W.; PINTO, H. A. Análise de Estabilidade Térmica do Aspartame em Soluções Aquosas na Presença de Lactose. *Revista Analytica*, n. 20, p. 66-70, 2006.

STULZER, H. K.; RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.M.; MATOS, J.S.R.; SILVA, M.A.S. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets

formulations. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetric*, Florianópolis, Brasil, v. 91, p. 323–328, 2008.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 56, p. 221-227, 2011.

VERAS, G.; BRITO, A. L. B.; SILVA, A. C.; SILVA, P.; COSTA, G. B.; FELIX, L. C. N.; FERNANDES, D. D. S.; FONTES, M. M.; Classificação do biodiesel na região do visível. *Quimica Nova*. v. 03, n.02, p. 315-318, 2012.

VERMA, R.K.; GARG, S. Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations, *Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis*, Haryana, India, v. 35, p. 449–458, 2004.

THOMPSON, J. E. *A Prática Farmacêutica na Manipulação de Medicamentos*. Artmed. Porto Alegre, 2006.

WESOLOWSKI, M.; ROJEK, B.; PIOTROSKA, J.; Application of chemometrically Processed Thermogravimetric data for Identification of Baclofen–excipient Interactions. *Journal of AOAC International*. v.95, n. 03, p. 691-698, 2012.

WESOLOWSKI, M.; ROJEK, B.; Thermogravimetric detection of incompatibilities between atenolol and excipients using multivariate techniques. *Journal Thermal Analysis and Calorimetric*. v. 113, n. 01, p. 169-177, 2013.

CAPÍTULO 2

Rodrigues, J. V. M. **Desenvolvimento e Controle da Qualidade de uma Solução Oral à base de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2015.

RESUMO

No desenvolvimento de um medicamento é preciso realizar os estudos de pré-formulação, que irão nortear a escolha dos excipientes e assim garantir o êxito na sua formulação. Quando o produto farmacêutico é um fitoterápico se faz necessário um maior cuidado com a preservação das propriedades do insumo ativo vegetal. Este trabalho objetivou desenvolver uma solução oral à base de extrato nebulizado de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. e realizar o controle da qualidade da formulação desenvolvida. Os excipientes escolhidos, após estudo de pré-formulação prévio, foram fosfato de sódio dibásico (agente tamponante), ácido lipóico (antioxidante), metilparabeno e propilparabeno (conservantes), propilenoglicol (cossolvente) e frutose (edulcorante). A solução foi desenvolvida seguindo os requisitos das Boas Práticas de Fabricação dispostos na Farmacopeia Brasileira (2010), sendo produzidos três lotes do medicamento fitoterápico, uma solução oral base, a solução oral de 12,5 mg.mL⁻¹ e outra de 25,0 mg.mL⁻¹. Cada lote apresentou um volume total de 100 mL. No controle da qualidade da formulação foram realizados os ensaios de densidade, volume médio, pH e contagem do número total de microrganismos para formas não-estéreis. Os lotes produzidos apresentaram o mesmo valor de densidade, o volume médio foi satisfatório e o pH condizente para uma forma farmacêutica de uso oral. O lote de concentração 12,5 mg.mL⁻¹ apresentou-se dentro das especificações da contagem de microrganismos, enquanto que, o lote de concentração 25,0 mg.mL⁻¹ apresentou contagem de fungos elevada. O lote de solução base apresentou-se fora dos padrões microbiológicos requeridos. Após o exposto, reafirma-se a importância do seguimento das Boas Práticas de Fabricação e a realização do controle da qualidade das formulações produzidas.

Palavras-chave: Formulação, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., Fitoterápico, Controle de Qualidade.

ABSTRACT**Rodrigues, J. V. M. Development and Quality Control of Oral Solution based on *Aspidosperma pyrifolium* Mart.**

Production a drug you need to assess their conditions from pre-formulation studies that will guide the choice of the excipients and thus make a success in its formulation. When the pharmaceutical product is a phytoterapic it takes more care of the preservation of the properties of vegetable active ingredient. This study aimed to develop an oral solution in nebulized extract base *Aspidosperma pyrifolium* Mart. and perform quality control of the developed formulation. The excipients chosen after prior pre-formulation study were dibasic sodium phosphate (buffering agent), lipoic acid (antioxidant), methylparaben and propylparaben (preservative), propylene glycol (cosolvent) and fructose (sweetener). The solution was developed following the requirements of Good Manufacturing Practices arranged in the Brazilian Pharmacopoeia (2010), and produced three batches of the herbal medicine, a base oral solution, oral solution of 12.5 mg.mL⁻¹ and the other 25.0 mg.mL⁻¹. Each batch had a total volume of 100 ml. In the formulation of the quality control were performed tests the density, medium volume, pH and counting the total number of microorganisms non-sterile form. The batches produced had the same density value, the medium volume was satisfactory and consistent pH for a pharmaceutical form for oral use. The batch concentrator 12.5 mg.mL⁻¹ was within the specifications of the microorganism count, while the batch concentration 25.0 mg.mL⁻¹ showed high count of fungi. The lot-based solution presented itself outside the required microbiological standards. After the above, it reaffirms the importance of following the Good Manufacturing Practices and the completion of the quality control of the produced formulations.

Keywords: Formulation, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., Phytoterapic, Quality Control.

1. INTRODUÇÃO

Para que uma forma farmacêutica seja obtida adequadamente, assim como seu efeito terapêutico, é preciso garantir que o princípio ativo contido no medicamento atue corretamente e que haja uma escolha correta dos excipientes utilizados (RAMOS; MORAIS, 2013).

Para o desenvolvimento das formas farmacêuticas, é necessário o conhecimento das características físicas, químicas, físico-químicas e biológicas de todos os fármacos e das matérias-primas empregadas na elaboração do produto, assim como a anatomia fisiológica do local de administração e absorção. Além do ingrediente ativo, é preciso destacar a importância dos excipientes, pois exercem a função de garantir a obtenção de uma formulação segura e com o efeito terapêutico esperado (PRISTA et al., 1992; RAMOS e MORAIS, 2013).

Dentre as formas farmacêuticas disponíveis, as soluções orais são preparações líquidas de boa aceitabilidade. Porém, por serem líquidas, proporcionam condições favoráveis para a deterioração dos ingredientes ativos nela presentes, reações de hidrólise, oxidação, complexação e polimerização, por exemplo. Tais reações podem desencadear alterações organolépticas do produto (FERREIRA et al., 2014).

Fármacos na forma de solução geralmente são absorvidos no trato gastrointestinal e liberados para a circulação sistêmica, tendo a vantagem de que na forma farmacêutica líquida não há necessidade da desintegração e dissolução do fármaco quando comparado com formulações sólidas (FERREIRA et al., 2014).

No Brasil, os produtos fitoterápicos são considerados medicamentos, sendo necessário o estabelecimento de estudos que assegurem a manutenção dos requisitos de qualidade durante o processamento e o armazenamento com o intuito de garantir a constância de sua ação e segurança de sua utilização (SOUZA, et al., 2015).

Após o desenvolvimento de formulação, faz-se necessário a realização de estudo controle de qualidade no intuito de verificar a conservação das propriedades e características das substâncias utilizadas. Ensaio físico-químico e microbiológico são efetuados segundo preconizado pela Farmacopéia Brasileira (2010) para comprovar a qualidade do produto obtido.

Este trabalho objetivou a obtenção de uma solução de uso oral à base de extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. e realização do controle de qualidade do fitoterápico obtido avaliando parâmetros físico-químicos e microbiológicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do Material Vegetal e Excipientes

Os excipientes utilizados foram escolhidos com base em um estudo de pré-formulação realizado previamente.

Após realização deste estudo foi possível selecionar excipientes com funções adequadas para o desenvolvimento da solução oral, possibilitando a conservação das funções dos mesmos e do extrato vegetal.

Em algumas classes de excipientes foi constatado mais de um excipiente compatível com o extrato de *A. pyrifolium* Mart. Com isso, a escolha do excipiente foi embasada na sua disponibilidade, nas características intrínsecas de cada um e no aspecto visual, fator importante na escolha do cossolvente.

As proporções em massa foram expressas inicialmente por faixas percentuais para cada excipiente e determinadas com base na literatura específica (THOMPSON, 2006; GIL, 2007; ROWE, SHESKEY e QUINN, 2009). Os excipientes, suas funções e percentuais estão expressos na Tabela 8.

Tabela 8 – Excipientes utilizados, função e faixa de proporção de massa.

Excipientes	Função	Proporção
Fosfato de sódio dibásico	Agente tamponante	q.s. pH 5-8
Ácido lipoico	Antioxidante	0,05 – 0,1%
Nipagin	Conservante	0,05 – 0,25%
Nipasol	Conservante	0,02 – 0,04%
Propilenoglicol	Cossolvente	10 – 50%
Frutose	Edulcorante	0,02 – 0,5%
Água	Solvente	q.s.p.

2.2 Desenvolvimento da Solução Oral

Foram manipulados três lotes de solução oral. Dois deles, à base de extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart., apresentaram concentração definida a partir de estudos farmacológicos com o extrato da planta realizados por Messiadés (2014) e o último lote foi produzido sem adição de extrato nebulizado, ou seja, continha apenas os excipientes na mesma proporção dos outros dois lotes.

Após a manipulação do volume total de cada lote, ocorreu o envase em frascos plásticos devidamente esterilizados. Cada frasco comportou alíquotas de 10 mL do respectivo lote.

Após o envase, realizou-se a rotulagem, identificando cada lote e descrevendo nos rótulos de cada amostra informações referentes à concentração de princípio ativo vegetal, data de fabricação e nome do discente responsável pela formulação.

Cada amostra, em todos os lotes, recebeu um número variando de 1 a 10, para auxiliar no rastreamento dos resultados referentes ao controle da qualidade.

2.3 Controle da Qualidade da Solução Oral Desenvolvida

O controle da qualidade foi realizado seguindo os ensaios descritos na Farmacopeia Brasileira V edição (2010), para solução oral.

2.3.1 Controle da Qualidade Físico-químico

2.3.1.1 Determinação da densidade do extrato nebulizado

A densidade do extrato nebulizado foi determinada pelo método descrito por Lachman, Lieberman & Kaning (2001), que consiste em determinar a densidade utilizando uma proveta de 25 mL, previamente pesada. O pó foi transferido até completar o volume de 15 mL, em uma proveta, de forma que partículas de ar não ficassem presentes entre os pós. Em seguida a proveta com o pó foi pesada.

A massa do pó foi determinada pela diferença de massas entre a proveta cheia e a vazia, permitindo que a densidade fosse calculada pela seguinte equação:

$$\text{Densidade} = \frac{\text{massa do pó}}{\text{volume da proveta usada}}$$

2.3.1.2 Determinação da densidade da formulação

A densidade da formulação foi determinada com o auxílio de densímetro digital (Densito 30PX, METLER TOLEDO). Foram realizadas medidas em triplicata de cada lote produzido.

2.3.1.3 Determinação do Volume Médio

O volume médio foi determinado seguindo a metodologia determinada pela Farmacopeia Brasileira V edição (2010). Após a medição da massa das unidades selecionadas para amostragem, com o auxílio do valor da densidade de cada lote, foi possível determinar o volume médio de cada amostra multiplicando a massa de formulação por sua respectiva densidade.

O volume médio de produtos líquidos em recipientes para doses múltiplas (exceto injetáveis) não deve ser inferior ao volume declarado e o volume individual de nenhuma das unidades testadas deve ser inferior a 95% do volume declarado (BRASIL, 2010).

2.3.1.4 Determinação do pH

O pH está envolvido na estabilidade dos fármacos, principalmente em soluções. Outros fatores como a solubilidade e a biodisponibilidade dependem da forma do pH. Além desses fatores, é importante respeitar a biocompatibilidade com a via de administração (GIL, 2010).

Para a determinação do pH dos lotes produzidos da formulação (solução-base e soluções testes 12,5 e 25,0 mg.mL⁻¹) foi utilizado um potenciômetro calibrado, marca Gehaka[®], com solução tampão pH 4,0 e 7,0. Cinco unidades de cada lote foram sorteadas para amostragem.

2.3.2 Controle de Qualidade Microbiológico

2.3.2.1 Contagem do número total de microrganismos para formas não-estéreis

O controle de qualidade microbiológico foi realizado segundo o preconizado pela Farmacopeia Brasileira 5 ed. (2010), o qual constitui na pesquisa por microrganismos em formas farmacêuticas não-estéreis através da técnica do *pourplate*, tornando possível a

pesquisa quanto à presença de bactérias e fungos, de acordo com os meios de cultura utilizados e condições de incubação.

Na contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) bacterianas, a quantidade por mL de amostra não pode exceder 20.000 UFC (BRASIL, 2010).

Além da pesquisa por bactérias, o controle de qualidade microbiológico também avalia a presença de fungos. Assim, o *pourplate* das mesmas diluições das formulações foi realizado utilizando o meio de cultura propício e respeitando as condições de incubação para crescimento fúngico. Na contagem de UFC.mL⁻¹ esse número não pode ultrapassar 200 UFC.mL⁻¹ (BRASIL, 2010).

Foi retirada uma amostra de cada lote para o controle microbiológico. A Farmacopeia Brasileira diz que lotes com quantidade menor que 1000 mL ou 1000 g devem ter 1% do seu total testado. Para produtos onde o número total de unidades no lote é menor que 200, duas unidades ou uma, torna-se suficiente quando o lote é menor ou igual a 100 unidades (BRASIL, 2010).

Além da Farmacopeia Brasileira, limites de contaminação foram estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde, para fitoterápicos. São expressas em número de UFC/grama. São 10⁵UFC/g para bactérias aeróbicas, 10³ UFC/g para fungos filamentosos e leveduras, *E.coli* 10/g UFC; outras enterobactérias 10³/g e ausência de *Salmonella*, *Shigella* e *Clostridios* em 1g para este tipo de produto (WHO,2011).

2.4 Análise estatística:

Os resultados dos experimentos foram analisados utilizando a análise de variância (ANOVA), com nível crítico menor que 0,05 (5%) ou 0,01(1%), para rejeição da hipótese de nulidade. O programa utilizado para o tratamento dos dados foi o Microsoft Office Excel 2010.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 9 demonstra a composição final de cada lote produzido, discriminando a quantidade de cada componente.

Tabela 9 – Fórmulas finais das soluções oral desenvolvidas.

Componentes da formulação	Proporção		
	12,5 mg.mL ⁻¹	25,0 mg.mL ⁻¹	Solução Base
Extrato nebulizado	125 mg	250 mg	-
Fosfato de sódio dibásico	q.s. pH 5-8	q.s. pH 5-8	q.s. pH 5-8
Ácido lípico	10 mg	10 mg	10 mg
Nipagin (Metilparabeno)	15 mg	15 mg	15 mg
Nipasol (Propilparabeno)	4 mg	4 mg	4 mg
Propilenoglicol	5 g	5 g	5 g
Frutose	10 mg	10 mg	10 mg
Água	q.s.p. 10 mL	q.s.p. 10 mL	q.s.p. 10 mL

No Controle da Qualidade Físico-químico, o extrato de *A. pyrifolium* apresentou densidade de 0,1574 g.cm⁻³. Costa et al. (2009) avaliou o pó de folhas de *Montrichardia linifera* Schott, popularmente conhecida como arruda. Utilizou o mesmo método e obteve densidade de 0,32 g.cm⁻³.

Uma substância sintética como o paracetamol, veiculado em sachê, teve a densidade do pó analisada, as amostras apresentaram valores de densidade aparente de 0,728 e 0,993 g.cm⁻³ (GARCIA et al., 2012).

A densidade de cada lote produzido está exposta a seguir na tabela 10.

Tabela 10 –Densidade de cada lote de solução oral produzidos.

Lote	Média da densidade ± d.p. (g.cm ⁻³)	Temperatura (°C)
Solução teste 12,5 mg.mL ⁻¹	1,04 ± 0,00	24,0
Solução teste 25,0mg.mL ⁻¹	1,04 ±0,00	24,4
Solução oral base	1,04 ±0,00	24,3

O fato dos lotes não terem apresentado variações quanto à densidade pode estar relacionado com o baixo valor de densidade do extrato nebulizado e a quantidade presente do mesmo em cada lote. Quando comparadas as quantidades de extrato com o volume total do lote, é possível perceber que a massa de extrato representa um percentual pequeno diante da massa total do lote, independente de sua concentração.

Além de auxiliar na determinação do volume médio das amostras, foi possível perceber a proximidade da densidade das amostras com o valor da densidade da água que é 1,0 g.cm⁻³, ou 1000 kg.m⁻³ de acordo com o Sistema Internacional (SAINT'PIERRE, 2015) destacando-se o fato da água ser um componente presente em grande quantidade em cada amostra da solução fitoterápica desenvolvida.

O controle da qualidade de um enxaguatório bucal à base de *Libidibia férrea* verificou que sua densidade, para um tempo de 60 dias após sua produção, era de $1,035 \text{ g. cm}^{-3}$, bem próximo ao valor da densidade das soluções à base de *A. pyriformium* Mart. Ambas as formulações apresentavam água destilada em sua composição, sendo que o cossolvente para esta era o propilenoglicol, e para aquela a glicerina (VENÂNCIO et al., 2015).

As Tabelas 11, 12 e 13 trazem a massa e volume das amostras em cada lote.

Tabela 11 –Volume das amostras do lote de concentração $12,5 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Amostra nº	Massa de formulação (g)	Volume da amostra (mL)
6	10,18	10,58
4	10,16	10,56
5	10,16	10,55
9	10,02	10,41
7	9,03	9,38

O volume médio para o lote de $12,5 \text{ mg.mL}^{-1}$ foi de $10,12 \pm 0,64 \text{ mL}$ (média \pm d.p.) por frasco. Foi possível avaliar que o lote citado anteriormente apresentou volume médio satisfatório diante do exigido pela Farmacopeia Brasileira (2010) já que a média de volume obtida não foi inferior ao volume estabelecido para cada amostra. Porém, quando analisadas individualmente, a amostra nº 7 apresentou volume inferior a 95% do declarado, ficando abaixo dos padrões farmacopeicos exigidos para volume médio.

O volume médio para o lote de $25,0 \text{ mg.mL}^{-1}$ foi de $10,35 \pm 0,17 \text{ mL}$ (média \pm d.p.) por frasco. Para este lote foi possível obter um volume médio aprovado diante da Farmacopeia Brasileira (2010). Todos os volumes analisados apresentaram valor acima de 10 mL, ou seja, superior ao volume declarado de 10 mL por amostra.

Tabela 12 –Volume das amostras do lote de concentração $25,0 \text{ mg.mL}^{-1}$.

Amostra nº	Massa de formulação (g)	Volume da amostra (mL)
8	9,82	10,24
7	10,07	10,51
3	9,95	10,38
4	10,06	10,49
6	9,74	10,16

O volume médio para o lote de formulação-base foi de $10,60 \pm 0,29$ mL (média \pm d.p.) por frasco. Para este lote, o volume médio obtido foi aprovado diante do preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010) e todos os volumes individuais analisados enquadraram-se nos parâmetros farmacopeicos requeridos.

Tabela 13 –Volume médio das amostras do lote de formulação-base.

Amostra nº	Massa de formulação (g)	Volume da amostra (mL)
5	9,93	10,28
3	9,99	10,34
4	10,05	10,39
7	10,54	10,91
8	10,20	10,56

Nas Tabelas 14, 15 e 16 estão expostos os resultados referentes à análise de pH. As leituras foram feitas em triplicata e a média aritmética das medidas e seu desvio padrão foram calculados.

Além de sortear quais amostras seriam submetidas, a ordem da realização das medições também foi realizada por meio de sorteio, a fim de evitar algum tipo de tendenciosidade.

Na solução oral base, sem a adição do extrato, foi utilizada a mesma quantidade de agente tamponante presente nos outros lotes, constatando menor valor de pH.

Tabela 14 –pH das amostras do lote de concentração $12,5 \text{ mg mL}^{-1}$.

Amostra nº	Média do pH \pm d.p.	Temperatura (°C)
6	5,34 \pm 0,03	24,80
4	5,36 \pm 0,01	25,10
5	5,38 \pm 0,02	24,70
7	5,25 \pm 0,01	24,80
9	5,16 \pm 0,02	25,20

Tabela 15 –pH das amostras do lote de concentração 25,0 mg.mL⁻¹.

Amostra nº	Média do pH± d.p.	Temperatura (°C)
8	5,35± 0,02	25,00
7	5,37 ± 0,04	24,80
3	5,35± 0,00	24,90
4	5,36 ± 0,01	25,00
6	5,36± 0,01	25,10

Em estudo que avaliou a estabilidade físico-química e microbiológica de 53 amostras de dipirona em solução para uso oral armazenadas em residências, foram constatados valores de pH entre 5, 01 e 6,95. De todas as amostras analisadas, nove delas apresentaram pH próximo ao das soluções à base de *A. pyrifolium* Mart. (FERREIRA et al., 2014).

Tabela 16 –pH das amostras do lote de formulação-base.

Amostra nº	Média dopH± d.p.	Temperatura (°C)
3	4,98± 0,06	24,40
5	4,90± 0,07	24,50
4	4,94± 0,02	24,50
7	4,95± 0,01	24,60
8	4,96± 0,01	24,60

Ao avaliar um enxaguatório bucal à base de *Libidibia ferrea*, Venâncio (2015) verificou que seu potencial hidrogeniônico, após 60 dias de armazenamento, era de 5,85.

Após comparações com outros estudos, é possível perceber a proximidade dos valores de pH dos lotes que contém o extrato nebulizado da planta. Enquanto que, o pH do lote de solução oral base apresentou maior diferença de pH, quando comparado com os outros lotes de solução fitoterápica produzidos e com os estudos descritos.

No que se refere à contagem do número total de microrganismos para formas não-estéreis, a Tabela 17 mostra a contagem de UFC de acordo com cada diluição a partir de 1 mL da formulação, na concentração de 12,5 mg.mL⁻¹.

Tabela 17 –Contagem de UFC de bactérias do lote de concentração de 12,5 mg.mL⁻¹.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC.mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	18	180	1,8 x 10 ³
10 ⁻²	2	200	2 x 10 ³
10 ⁻³	1	1000	1 x 10 ⁴
10 ⁻⁴	---	---	---
10 ⁻⁵	---	---	---
10 ⁻⁶	---	---	---

Pode-se visualizar que nas diluições, as quais havia contaminantes foi possível a contagem de UFC. A quantidade presente em todas elas não ultrapassou o limite tolerável de UFC.mL⁻¹ estabelecido pela Farmacopeia Brasileira que é de 20.000 UFC/mL. Conclui-se que o lote produzido seguiu as boas práticas de fabricação e está dentro dos parâmetros necessários para a garantia de sua segurança e conservação (BRASIL, 2010).

Na Tabela 18 segue o controle de qualidade da solução não-estéril na concentração de 25,0 mg.mL⁻¹.

Tabela 18 –Contagem de UFC de bactérias do lote de concentração de 25,0mg.mL⁻¹.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC.mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	33	330	3,3 x 10 ³
10 ⁻²	11	1100	1,1 x 10 ⁴
10 ⁻³	2	2000	2 x 10 ⁴
10 ⁻⁴	---	---	---
10 ⁻⁵	---	---	---
10 ⁻⁶	---	---	---

Nesse lote também foi possível à contagem de microrganismos presentes nas três primeiras diluições. As amostras aqui enquadradas, apresentaram níveis de contaminação dentro dos limites permitidos pela Farmacopeia Brasileira para formas farmacêuticas não-estéreis que é de 20.000 UFC.mL⁻¹. Portanto, a garantia da qualidade microbiológica desse lote está comprovada (BRASIL, 2010).

O controle de qualidade da solução base foi realizado e visto que na ausência do insumo ativo houve grande número de microrganismos presentes, sugere-se que provavelmente, nas soluções de 12,5 e 25,0 mg.mL⁻¹, o extrato nebulizado atuou com ação antimicrobiana, conservando as formulações e evitando suas contaminações. A Tabela 19 traz

com detalhes os resultados referentes ao controle de qualidade microbiológico da solução base.

De acordo com os limites estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2010), o lote de solução oral base não estaria em condições mínimas de qualidade, já que houve crescimento microbiano em todas as diluições e em números elevados.

Tabela 19 –Contagem de UFC de bactérias do lote de solução oral base.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC.mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻²	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻³	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻⁴	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻⁵	482	48.200.000	4,82 x 10 ⁸
10 ⁻⁶	10	10.000.000	1 x 10 ⁸

A Tabela 20 traz os resultados do controle de qualidade microbiológico referentes à pesquisa de fungos da solução de menor concentração.

Tabela 20 –Contagem de UFC de fungos do lote de concentração de 12,5 mg.mL⁻¹.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC.mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	4	40	4 x 10 ²
10 ⁻²	---	---	---
10 ⁻³	---	---	---
10 ⁻⁴	---	---	---
10 ⁻⁵	---	---	---
10 ⁻⁶	---	---	---

Houve contagem de UFC na pesquisa de fungos apenas na primeira diluição. Contagem que se encontra abaixo do limite aceitável para formas não-estéreis. O lote de solução oral de 12,5 mg.mL⁻¹ está dentro dos padrões da Farmacopeia Brasileira para a pesquisa de fungos.

A Tabela 21, por sua vez, traz os valores de UFC.mL⁻¹ da pesquisa de fungos da solução de concentração 25,0 mg.mL⁻¹.

Tabela 21 –Contagem de UFC de fungos do lote de concentração de 25,0 mg.mL⁻¹.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC .mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	105	1050	1,05 x 10 ⁴
10 ⁻²	2	200	2 x 10 ³
10 ⁻³	---	---	---
10 ⁻⁴	---	---	---
10 ⁻⁵	---	---	---
10 ⁻⁶	---	---	---

Diferentemente da solução de menor concentração de insumo ativo, esta obteve contagem acima do tolerado pela Farmacopeia Brasileira (2010), contagem obtida na primeira diluição da amostra com valor superior a 200 UFC.mL⁻¹. A partir dos dados obtidos quanto ao controle de qualidade dos lotes produzidos, cogitou-se um desvio pontual durante o processo de produção do lote de maior concentração. Visto que, o mesmo teve valores satisfatórios para o controle de qualidade bacteriano e o lote de solução de menor dose obteve resultados que comprovaram uma boa qualidade do produto.

A Tabela 22 expressa os valores encontrados no controle de qualidade da solução base quanto à pesquisa de fungos.

Tabela 22 –Contagem de UFC de fungos do lote de solução oral base.

Diluição	Contagem de UFC	Nº de UFC.mL ⁻¹	Nº total de UFC
10 ⁻¹	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻²	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻³	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS	INCONTÁVEIS
10 ⁻⁴	218	2.180.000	2,18 x 10 ⁷
10 ⁻⁵	15	1.500.000	1,5 x 10 ⁷
10 ⁻⁶	2	2.000.000	2 x 10 ⁷

Assim como ocorreu na pesquisa por bactérias realizada na solução base, a contagem de células fúngicas extrapolou os limites aceitáveis, demonstrando a contaminação deste lote.

Em estudo realizado por Venâncio (2015), foi possível obter uma forma farmacêutica líquida isenta de microrganismos, não havendo conseqüentemente, alterações nas características organolépticas. Já em outro estudo que avaliou a qualidade microbiológica de um colutório oral, foi verificada a presença de microrganismos. Sendo 0,33 x 10¹UFC.mL⁻¹ de bactérias mesófilas totais e 0,336 x 10¹UFC.mL⁻¹ de estruturas fúngicas. Apesar desses resultados, o referido produto apresentou-se apto para consumo, pois os níveis de contaminação estavam abaixo do permitido (RODRIGUES et al., 2014).

Segundo Pinto et al.(2010), a qualidade microbiana dos produtos farmacêuticos é afetada não pelos tipos e grandeza de microrganismos introduzidos durante a fabricação, estocagem e uso, mas depende da interação dos mesmos com a formulação. Muitos fatores devem ser considerados para o crescimento microbiano ou para sua inibição. Como exemplos os fatores físico-químicos, o sistema conservante da formulação, a atividade de água e o poder antimicrobiano do fármaco. Na pesquisa de UFC realizada, tanto para bactérias quanto para fungos, o poder antimicrobiano do extrato nebulizado foi salutar para a qualidade da formulação. Fato comprovado pela elevada contaminação da formulação que não continha o referido extrato.

4. CONCLUSÃO

A formulação da solução oral a base de *A. pyrifolium* Mart. foi realizada com êxito e embasada em dados obtidos a partir do estudo de pré-formulação. Foi realizado controle da qualidade físico-químico e microbiológico de forma satisfatória.

Através de experimentos desse cunho foi possível avaliar o produto terminado em âmbitos diferentes. Os lotes produzidos apresentaram-se estáveis e condizentes diante de parâmetros requeridos para uma forma farmacêutica fitoterápica não-estéril, mesmo que alguns resultados tenham sido sugestivos de desvios pontuais no controle da qualidade microbiológico, possivelmente ocorrentes durante o processo de manipulação do lote.

O controle da qualidade da formulação da solução oral foi realizada com sucesso, tornando possível a avaliação e comprovação das boas práticas de fabricação do fitoterápico.

5. REFERÊNCIAS

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5 ed. Ed. Brasília: ANVISA, 2010.

COSTA, E. S. S.; DOLABELA, M. F.; PÓVOA, M. M.; OLIVEIRA, D. J.; MULLER, A. H. Estudos farmacognósticos, fitoquímicos, atividade antiplasmódica e toxicidade em *Artemia salina* de extrato etanólico de folhas de *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott, Araceae. Revista Brasileira de Farmacognosia. v. 19, n.4, p.834-838, 2009.

FERREIRA, B. C. A.; NOVAIS, E. B.; RIBEIRO, R. B. C.; FERNANDES, C. K. C. Estudo de estabilidade físico-química e microbiológica de dipirona em gotas armazenadas em residências do município de São Luis de Montes Belos-GO. Revista Faculdade Montes Belos. v. 7, n. 1, p. 109-120, 2014.

GARCIA, A. Q. R.; PEREIRA, T. C. B.; DIAS, I. L. T. Estudos das propriedades de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. Rev. Bras. Farm. v. 93, n. 9, p. 469-475, 2012.

GIL, E. S.; BRANDÃO, A. L. A. Excipientes: suas Aplicações e Controle Físico-Químico. Pharmabooks, São Paulo, 2007.

GIL, E.S. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. Editora Pharmabooks, Terceira edição, p. 509, 2010.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING TEORIA, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Editora Fundação Calouste Gulbenkian, v.1, 2001.

MESSIADES, D. M. da S. Estudo das Propriedades Biológicas, Fitoquímicas e Toxicológicas de *Aspidosperma pyriforme* Mart. Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2014.

OLIVEIRA, R. S.; COLAÇO, W. Revalidação e Controle Microbiológico de Fitoterápicos. Revelação não-confidencial de invenção. Diretoria de Inovação e Empreendedorismo. UFPE, 2015.

PINTO, T.J.A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos. Atheneu, São Paulo, p., 2010.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. Técnica Farmacêutica e Farmácia Galênica. Vol. 2; 3.ed. Fundação Calouste Gulbenkian. Lisboa, 1990.

RAMOS, G.; MORAIS, D. C. M. Revisão de Literatura Sobre Excipientes em Farmácia de Manipulação. FOCO, n. 5, p. 11-26, 2013.

RODRIGUES, L. A.; MAGALHÃES, L. S.; PUSSENTE, C. G.; CRESPO, J. M. R. S.; SOARES, A. F. Elaboração de um fitoterápico antibiótico a partir da casca de *Anadenanthera macrocarpa*. Revista Científica da FAMINAS, v. 10, n. 3, p. 23-39. Muriaé, 2014.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Pharmaceutical Press, 6.ed. 2009.

SAINT'PIERRE, T. D. Densidade. CreativeCommons. Disponível em: <<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/br/legalcode>> Acesso em 19, jul. 2015.

SOUZA, C. R. F.; FERNANDES, L. P.; BOTT, R. F.; OLIVEIRA, W. P. Influência do processo de secagem e condição de armazenamento de extratos secos de *Bauhinia forficata* e *Passiflora alata* sobre seu perfil de dissolução. Rev. Bras. Pl. Med., v.17, n. 1, p. 67-75. Campinas, 2015.

VENÂNCIO, G. N.; RODRIGUES, I. C.; DE SOUZA, T. P.; MARREIRO, R. O.; BANDEIRA, M. F. C. L.; CONDE, N. C. O. Enxaguatório bucal fitoterápico à base de *Libidibia ferrea*: controle microbiológico, características organolépticas, sedimentação, pH e densidade. Rev. Odontol. UNESP, v. 44, n. 2, p. 118-124. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Updated edition of Quality control methods for medicinal plant materials, 1998. WHO, 2011. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/979241500739_eng.pdf>. Acesso em: 03jul. 2015.

CAPÍTULO 3

Rodrigues, J. V. M. **Avaliação da Atividade Analgésica e Anti-inflamatória de Solução Oral Desenvolvida a partir do Extrato Nebulizado de *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2015.

RESUMO

A *Aspidosperma pyrifolium* Mart. apresenta em sua composição metabólitos relacionados com efeitos analgésicos e anti-inflamatórios. Os flavonoides e saponinas seriam os possíveis responsáveis pela ação analgésica e anti-inflamatória encontrada. Assim, este trabalho objetivou avaliar a formulação farmacêutica à base de *A. pyrifolium* Mart. (pereiro), na forma de solução, em duas diferentes concentrações, com enfoque nas suas propriedades analgésica e anti-inflamatória e, conseqüentemente, na conservação dessas propriedades do extrato nebulizado da planta quando incorporado em formulação líquida. Foram testadas, em animais, soluções nas concentrações de 125 e 250 mg.kg⁻¹ de extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. quanto a atividade analgésica e antinflamatória. Além desses lotes testados, foi produzido um terceiro lote de solução oral base. Foram realizados ensaios de peritonite, induzida por carragenina, e contagem de contorções, por ácido acético, em camundongos, para avaliar o potencial das soluções elaboradas. Foi observado que no teste de formalina as formulações apresentaram bons resultados em sua primeira fase, a qual avalia a inibição da dor neurogênica. Os testes de contagem do número de contorções e peritonite apresentaram resultados promissores. No teste de peritonite, as soluções de 125 e 250 mg.kg⁻¹ apresentaram percentuais de 71,4 e 93,53% de ação antiqüimiotática, respectivamente. Na contagem de contorções, a solução de menor concentração apresentou 70,6% de inibição, enquanto a solução de maior concentração obteve 89,4% de inibição do número de contorções. Conclui-se que a formulação farmacêutica a base de *A. pyrifolium* Mart. apresentou êxito em seus resultados comprovando a conservação das propriedades analgésica e anti-inflamatória do extrato nebulizado.

Palavras-chave: Nocicepção, Inflamação, *Aspidosperma pyrifolium* Mart., Fitoterápico.

ABSTRACT

Rodrigues, J. V. M. Analgesic Activity Evaluation of Anti-inflammatory and Oral Solution Developed based on the nebulized extract *Aspidosperma pyriforme* Mart.

The *Aspidosperma pyriforme* Mart. presents in its composition metabolites with analgesic and anti-inflammatory effects. Flavonoids and saponins would be potentially responsible for analgesic and anti-inflammatory found. Thus, this study evaluated two solutions of different concentrations, based on *A. pyriforme* Mart. focusing on analgesic and anti-inflammatory properties and, therefore, conservation of nebulized extract of the plant properties when incorporated in a liquid formulation. Solutions of nebulized extract of *A. pyriforme* Mart. with 125 and 250 mg.kg⁻¹ of concentration were tested. In addition to these lots, a third base oral solution was produced. The solutions were subjected to the peritonitis test and counting the number of writhes by using mice, and the test of nociception induced by formalin in rats. Interpreting the results it was observed that the formalin test showed good results in its first phase, which evaluates the inhibition of neurogenic pain. The test of counting the number of writhes and peritonitis have shown promising results. In peritonitis test, the solutions of 125 and 250 mg.kg⁻¹ had percentages of 71.4 and 93.53% of anti-chemotactic share, respectively. In the test of counting number of contortions, the phytotherapeutic solutions continued showing good results. The solution of low concentration obtained 70.6% of inhibition, while the solution of higher concentration, the percent inhibition of 89.4% in the number of writhes. It is possible to conclude that the transformation of medicinal plant in a phytotherapeutic medicine occurred successfully, its results are proving the conservation of analgesic and anti-inflammatory effect of nebulized extract of *A. pyriforme* Mart.

Keywords: Nociception, inflammation, *Aspidosperma pyriforme* Mart., herbal medicine.

1. INTRODUÇÃO

Na busca por alívio da dor e inflamação, pode-se fazer uso de analgésicos e anti-inflamatórios de diversos tipos disponíveis no mercado farmacêutico. Como exemplo de medicamento desse cunho, existem os inibidores da ciclooxigenase. Tais medicamentos atuam na diminuição da prostaglandina e prostaciclina, reduzindo o edema. Com a redução de prostaglandinas há uma menor sensibilização de terminações nervosas nociceptivas, caracterizando assim o efeito analgésico (RANGE et al., 2012).

Através de ensaios biológicos é possível determinar a potência de um fármaco ou mediador desconhecido, a partir do efeito que o mesmo produz. Tal ensaio requer a comparação entre uma preparação desconhecida e um padrão (RANGE et al., 2012).

Com o auxílio de conhecimentos acerca da atividade biológica do vegetal, é possível a transformação da planta medicinal em produto fitoterápico, necessitando de estudos de pré-formulação que corroborem na obtenção de novos fitoterápicos (TOLEDO et al., 2003).

Os vegetais apresentam metabólitos secundários em sua composição, que são compostos orgânicos, em sua maioria, biossintetizados a partir de carboidratos, proteínas e lipídeos. As diferentes atividades farmacológicas de uma planta estão relacionadas com os metabólitos de sua composição (OOTANI et al., 2013).

A *Aspidosperma pyrifolium* Mart., após caracterização fitoquímica semiquantitativa de seu extrato hidroalcoólico, demonstrou a presença de flavonoides, polifenóis, taninos e saponinas como metabólitos secundários. Os flavonoides e saponinas seriam os possíveis responsáveis pela ação analgésica e anti-inflamatória encontrada (MESSIADES, 2014).

Além dos compostos citados, há ainda os alcalóides indólicos característicos da família Apocynaceae e do gênero *Aspidosperma* (SANTOS et al., 2013). Os alcalóides são substâncias orgânicas que apresentam atividade analgésica, sedativa, anestésica, antiinflamatória, entre outras. Porém, possuem propriedades citotóxicas e toxicológicas marcantes, necessitando de estudos abrangentes nesse âmbito (LUCENA et al., 2010).

Este trabalho objetivou a avaliação da atividade farmacológica de solução oral desenvolvida à base de extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. com enfoque para atividade analgésica e anti-inflamatória do mesmo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Solução oral teste

Três lotes de solução oral produzidos foram submetidos para avaliação da atividade farmacológica. Dois deles continham extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. na concentração de 125 e 250 mg.kg⁻¹. O terceiro lote constava da solução oral base, este produzido sem adição de extrato nebulizado da planta.

Dentre as dez amostras produzidas por lote, cinco foram retiradas aleatoriamente para os testes farmacológicos. Não houve uma ordem para o uso das amostras por lote, foram sendo utilizadas de acordo com o volume necessitado e calculado de acordo com o peso dos animais.

2.2 Animais

Os animais utilizados foram oriundos de biotério situado no município de Puxinanã – PB. Os ratos foram utilizados ao atingirem 50 a 60 dias de vida, aproximadamente, e, os camundongos após atingirem 30 dias de vida. Sua alimentação no biotério e no ambiente laboratorial seguiu as condições *ad libitum*, com ração específica para ratos e camundongos, mamadeiras adequadas para hidratação oral e gaiolas adequadas para a criação de roedores.

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética em uso de animais (CEUA), da Faculdade de Ciências Sociais e Aplicadas (FACISA). O parecer encontra-se no Anexo I deste trabalho com N° de Projeto 0047/17102014 e CIAEP/ CONCEA N° 010012012.

2.3 Avaliação da atividade antinociceptiva

2.3.1 Contorções abdominais induzidas por ácido acético

O teste avaliou quatro grupos de camundongos adultos machos, contendo cinco animais cada grupo (n=5), em jejum prévio de 12 horas. O primeiro grupo foi tratado por via oral com dipirona 500 mg.kg⁻¹ (controle positivo). O segundo grupo foi o controle negativo e recebeu 10 mL.kg⁻¹ da solução-base, sem extrato vegetal. O terceiro e quarto grupos foram tratados com as soluções orais nas doses de 125 e 250 mg.kg⁻¹ (soluções teste),

respectivamente.

Após 40 minutos, foi injetada uma solução de ácido acético a 1% (0,1 mL/10g⁻¹) via intraperitoneal. Posteriormente, os animais foram transferidos para funis de vidro transparentes e observados por 20 minutos para se contabilizar o número e o tempo de início das contorções abdominais seguido do estiramento dos membros inferiores.

O percentual de inibição foi calculado usando a fórmula: Inibição = (V-T)/Vx100%, onde V é o número de contorções do grupo veículo e T os testes (KOSTER et al. 1959; COLLIER et al., 1968; FREIRE et al., 1993).

2.4 Avaliação da atividade anti-inflamatória

2.4.1 Teste de peritonite

O teste avaliou quatro grupos de camundongos adultos machos contendo cinco animais cada grupo (n=5), em jejum prévio de 12 horas. O primeiro grupo foi tratado por via oral com 10 mL.kg⁻¹ de indometacina (controle positivo). O segundo grupo foi o controle negativo, recebeu 10 mL.kg⁻¹ da solução-base, sem extrato vegetal. O terceiro e quarto grupos foram tratados com as soluções orais nas doses de 125 e 250 mg.kg⁻¹ (soluções teste), respectivamente.

Após 30 min. da administração das respectivas soluções de cada grupo, foi injetada uma solução de carragenina a 1% (0,1 mL.10g⁻¹) na cavidade intraperitoneal de todos os animais. Quatro horas após a indução da inflamação, os animais foram sacrificados e a cavidade intraperitoneal lavada com 2 mL do tampão fosfato (PBS), sendo este, posteriormente coletado.

A contagem de leucócitos foi realizada em contador de células hematológico Advia 60. O percentual de inibição foi calculado usando a fórmula: Inibição = (V-X)/Vx100%, onde V é o número de leucócitos do grupo veículo e X os testes ou controle positivo (FERRÁNDIZ et al. 1991).

2.5 Análise estatística:

Para a análise dos resultados dos experimentos realizados será utilizada a análise de variância (ANOVA), com nível crítico menor que 0,05 (5%) ou 0,01(1%), para rejeição da

hipótese de nulidade. O programa utilizado para o tratamento dos dados foi o Microsoft Office Excel 2010 e o GraphpadPrism.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Uma das formas de avaliar a atividade antinoceptiva da solução fitoterápica produzida foi realizando o Teste de Contorções induzidas por ácido acético foi realizado e a Tabela 23 demonstra a média de contorções abdominais por grupo, assim como o percentual de inibição. É eminente destacar a similaridade ou até mesmo a superioridade dos resultados obtidos pelas soluções fitoterápicas quando comparadas com o medicamento utilizado como controle positivo do teste, a dipirona. A solução fitoterápica de concentração 125 mg.kg⁻¹ obteve percentual bem próximo aos valores de inibição da dipirona. Já a solução de maior concentração de *A. pyrifolium* Mart., 250 mg.kg⁻¹, apresentou valores superiores de inibição quando comparada ao medicamento utilizado no grupo controle positivo. É importante ressaltar que as doses de extrato nebulizado utilizadas foram menores que a dose de dipirona utilizada. Os dados obtidos possuem ótimo grau de significância (***= p<0,001).

Tabela 23 – Efeito antinociceptivo das formulações de *A. pyrifolium* Mart. sobre o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

Tratamentos	Dose via oral	Nº de contorções	Inibição (%)
Solução base	10 mL.kg ⁻¹	68±11,92	-
Dipirona	500 mg.kg ⁻¹	15,2±13,01***	77,65
Solução teste 1	125 mg.kg ⁻¹	20±8,25***	70,6
Solução teste 2	250 mg.kg ⁻¹	7,2±9,86***	89,4

Os resultados estão expressos como média ± d.p (n=5). Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo veículo, *p <0,05; **p <0,01; ***p <0,001.

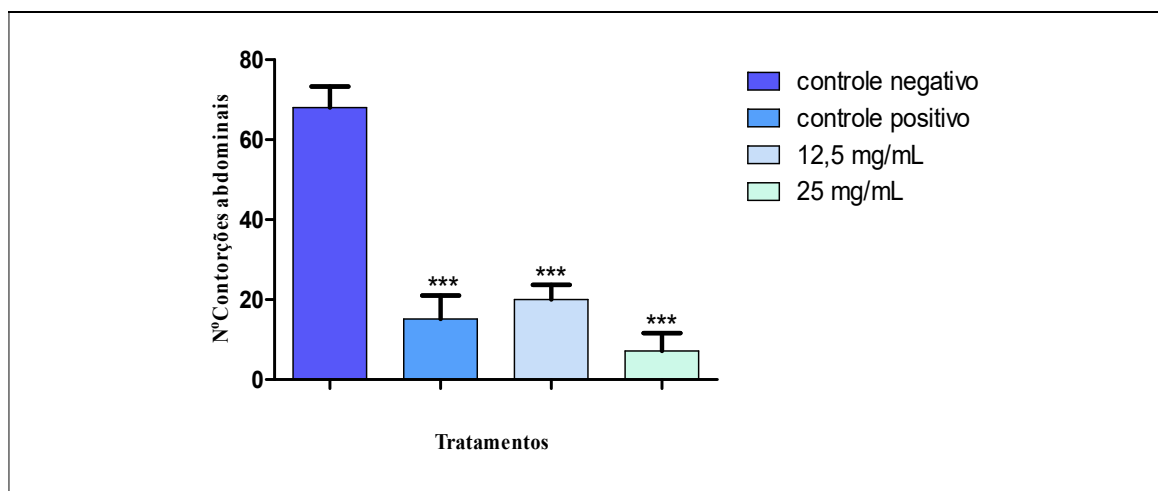
O teste de contorções ocorre por estimulação dos receptores peritoneais locais por meio do ácido acético. Tais receptores promovem a constrição abdominal tornando possível estabelecer a ação periférica de analgésicos. Há, simultaneamente, a possibilidade de o ácido acético causar aumento nos níveis de prostaglandinas (PGE2 e PGF2) no fluido peritoneal, aumentando a permeabilidade capilar e ocasionando dor inflamatória. O impedimento da

estimulação dos receptores abdominais ou a inibição da liberação das prostaglandinas, ou ambos os mecanismos, podem atuar na inibição da resposta às contorções (ADEDAPPO et al., 2013).

Estudos demonstram o envolvimento do receptor TRPV1 nas contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. Tais receptores são canais de cálcio não seletivos, sensíveis e ligantes presentes em tecidos envolvidos na nocicepção e na inflamação. Antagonista desse tipo de receptor provoca antinocicepção em animais como ratos e camundongos (IKEDA et al. 2001; JHAVERI et al., 2005; MA et al. 2007).

Após análise dos dados da Tabela 24 e interpretando os dados de forma diferente através da Figura 16, as soluções à base de *A. pyrifolium* Mart. apresentaram boa atividade antinociceptiva. Os percentuais de inibição apresentaram crescimento diretamente proporcional à dose aplicada, havendo inibição expressivamente maior no grupo tratado pela solução teste de maior concentração. Neste teste, todos os dados foram estatisticamente significantes e ambas as soluções fitoterápicas apresentaram bons resultados que podem ser observados graficamente através da Figura 17.

Figura 16 –Efeito antinociceptivo das formulações de *A. pyrifolium* Mart. sobre o número de contorções abdominais induzidas por ácido acético.



*p <0,05; **p <0,01; ***p <0,001. Os asteriscos presentes nas colunas indicam que os dados foram estatisticamente significativos.

Analisando os dados graficamente é possível perceber a proximidade do grau de inibição das contorções entre os grupos tratados com o controle positivo e com a solução oral de 125 mg.kg⁻¹. Pode-se ainda visualizar a alta capacidade de inibição da solução de 250

mg. kg⁻¹, na qual, os animais tratados apresentaram número de contorções abdominais bem abaixo daqueles tratados com o controle positivo.

Os percentuais relevantes de inibição no número de contorções podem estar relacionados com as saponinas e flavonóides. Segundo Alvarenga et al. (2013), os mesmos estão diretamente relacionados com a analgesia periférica.

Ao avaliar a capacidade analgésica do extrato etanólico das folhas de *B. unguolata* L., Paula (2014) obteve 67,9% de inibição das contorções, em relação ao controle negativo, utilizando o extrato na concentração de 43,3 mg. kg⁻¹. Com concentrações menores do extrato foram obtidos os percentuais de 33,16% e 8,29% para valores de 13,8 e 4,8 de concentração do extrato, respectivamente.

Comparativamente, o extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart. incorporado em formulação líquida, obteve melhores resultados de inibição quando comparado com o extrato etanólico das folhas de *B. unguolata* L. (PAULA, 2014). Portanto, foi comprovada a conservação das propriedades farmacológicas da *A. pyrifolium* Mart. Mesmo após o extrato ser submetido ao processo de nebulização e ser incorporado a uma matriz líquida.

O Teste de Peritonite foi realizado para avaliar a atividade anti-inflamatória da solução oral desenvolvida. A indução de peritonite por efeito da carragenina fornece dados relacionados com a atividade antiquimiotática. Esta é avaliada de acordo com a contagem de leucócitos presentes no exsudato coletado. (BARROS et al., 2004). Este teste avaliou apenas a capacidade antiquimiotática já que o efeito antiedematogênico é avaliado pelo teste de edema de pata.

Neste teste cada grupo teve sua contagem média de leucócitos exposta e o percentual antiquimiotático calculado tendo como base o grupo que recebeu a solução oral base como controle negativo. Tais resultados encontram-se na Tabela 24.

A análise dos dados aponta para uma boa atividade anti-inflamatória das soluções teste. Os percentuais de inibição apresentaram-se próximos ou maiores que o valor referente ao controle positivo. Ratifica-se o potencial anti-inflamatório da planta investigada e a eficácia de sua formulação. É possível observar que todos os dados foram estatisticamente significantes (***) $p < 0,001$ e que ambas as soluções teste apresentaram resultados com êxito. O efeito antiquimiotático aumentou progressivamente com a elevação da dose, sugestivo de um efeito farmacológico dose-dependente. Todos os resultados para este teste foram estatisticamente significativos.

A ação anti-inflamatória observada pode estar relacionada com a presença de polifenóis como taninos e flavonóides. Estes últimos tem destaque por sua notável ação anti-inflamatória e antioxidante (GARCIA-LAFUENTE et al., 2009; BESSA et al., 2013; SAHA et al., 2013).

Além dos fitoconstituintes citados, a *A. pyriformium* apresenta em sua composição alcalóides e saponinas, compostos cuja ação é de cunho anti-inflamatório e antiedematogênico (SANTOS et al. 1995; BARBOSA-FILHO et al. 2006; SANTOS, 2010; MESSIADES, 2014).

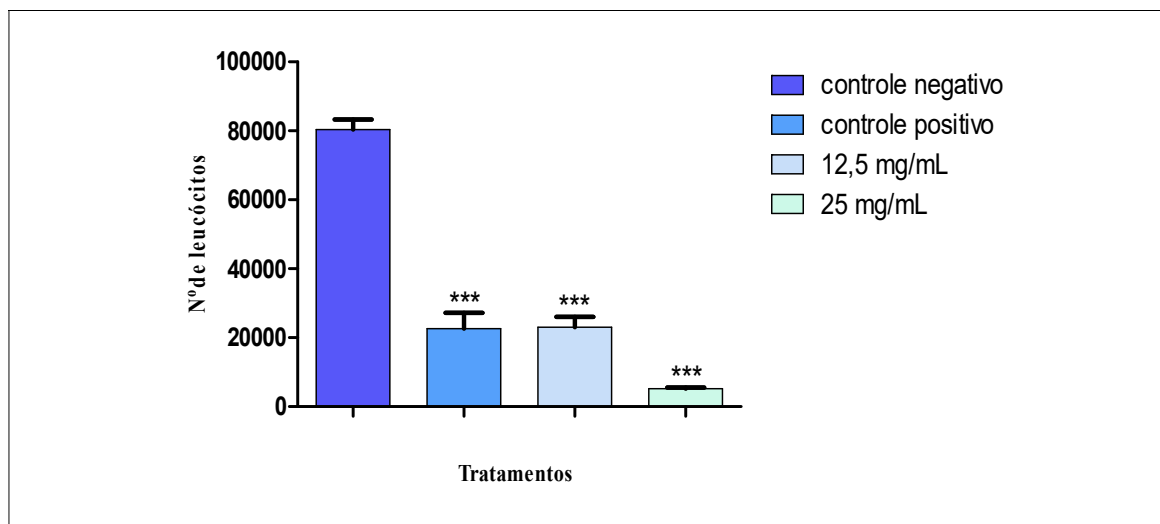
Os dados foram expostos em gráfico de barras possibilitando uma visualização diferenciada dos resultados, como mostra a Figura 17.

Tabela 24—Efeito antiqumiotático das formulações de *A. pyriformium* Mart.sobre o número de leucócitos totais no exsudato da peritonite induzida pela carragenina.

Tratamentos	Dose via oral	Número de leucócitos ($\times 10^3/\text{mm}^3$)	Inibição (%)
Solução base	10 mL.kg ⁻¹	80,40±6,47***	-
Indometacina	10 mg.kg ⁻¹	22,60±10,24***	71,88
Solução teste 1	125 mg.kg ⁻¹	23,00±6,75***	71,40
Solução teste 2	250 mg.kg ⁻¹	5,20±0,84 ***	93,53

Os resultados estão expressos como média ± d.p (n=5). Análise de variância de uma via (ANOVA) seguido do teste de Dunnett comparado ao grupo Solução base, *** = p<0,001.

Figura 17 –Efeito antiquimiotático das formulações de *A. pyriformium* Mart.sobre o número de leucócitos totais no exsudato da peritonite induzida pela carragenina.



*p <0,05; **p <0,01; ***p <0,001. Os asteriscos presentes nas colunas indicam que os dados foram estatisticamente significativos.

Em trabalhos como o de Matta et al. (2015), o teste de peritonite apresentou resultados referentes às frações de *Caulerpakempfi* na concentração de 100 mg.kg⁻¹. As frações hidroalcoólica e hexânica apresentaram percentuais de inibição de 27,0 e 26,0%, respectivamente. A fração de acetato de etila obteve maior potencial antiquimiotático, 53,8%. O percentual de inibição leucocitária da indometacina, controle positivo do teste, foi de 67,1%. As soluções à base de *A. pyriformium* Mart. apresentaram percentual antiquimiotático bem mais expressivo, e apresentaram grupo controle positivo com percentual de inibição de 71,88, valor condizente com o obtido por Matta et al. (2014).

4. CONCLUSÃO

A avaliação da atividade farmacológica das soluções fitoterápicas desenvolvidas foram testadas. Os resultados quanto aos perfis analgésico e anti-inflamatório mostraram êxito, quando comparados com outros trabalhos, que avaliaram outros extratos de origem vegetal, investigando as mesmas ações farmacológicas.

No teste de indução de nocicepção por formalina, as duas soluções se destacaram por seus resultados obtidos na fase I do teste, demonstrando atividade analgésica relacionada com a dor neurogênica. As duas soluções apresentaram percentual de inibição da dor maior que o grupo controle positivo na mesma fase do teste.

No teste de contorções, destacou-se a paridade dos resultados obtidos pelo grupo controle positivo com os resultados referentes à solução de concentração 125 mg.kg^{-1} , enquanto que a solução fitoterápica de maior concentração, 250 mg.kg^{-1} , apresentou valores de inibição maiores que os obtidos pela dipirona, medicamento referente ao controle positivo.

Na investigação da capacidade antiinflamatória realizada em camundongos, as soluções de menor e maior concentração de extrato nebulizado apresentaram percentuais antiquimiotático de 71,4 e 93,53%, respectivamente. Equiparando e superando mais uma vez o medicamento utilizado como controle positivo.

Após o exposto, o objetivo do trabalho foi alcançado já que houve conservação das propriedades farmacológicas do extrato nebulizado de *A. pyrifolium* Mart., quando incorporado em solução.

5. REFERÊNCIAS

ADEDAPO, A.; ADEWUYI, T.; SOFIDIYA, M. Phytochemistry, anti-inflammatory and analgesic activities of the aqueous leaf extract of *Lagenaria breviflora* (Cucurbitaceae) in laboratory animals. *Revista de Biología Tropical*, v.61, n.1, p.281-290, 2013.

ALVARENGA, F.Q.; MOTA, B.C.F.; LEITE, M, N.; FONSECA, J.M.S.; OLIVEIRA, D.A.; ROYO, V.A.; SILVA, M.L.A.; ESPERNADIM, V.; BORGES, A.; LAURENTIZ, R.S. *in vivo* analgesic activity, toxicity and phytochemical screening of the hydroalcoholic extract from the leaves of *Psidium cattleianum* Sabine. *Journal of Ethnopharmacology*, v, 150, n. 28, p. 280-284, 2013.

ARAÚJO, A. A. S.; BONJARDIM; L. R.; MOTA, E. M.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ESTEVAM, C. S.; CORDEIRO, L.; SEIXAS, S. R. S.; BATISTA, J. S.; QUINTANS JÚNIOR, L. J. Antinociceptive activity and toxicological study of aqueous extract of *Egletes viscose* Less (Asteraceae). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 44, n. 4, p. 707-715, 2008.

ARAÚJO, F. O.; MENEZES, P. P.; ANDRADE, T. A.; SOUSA, B. M. H.; SANTANAL, D. V. S.; DÓRIA, G. A. A.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J.; COSTA, E. V.; SILVA, G. F.; MENEZES, I. A.; LEITE, L. H. I. L.; PEREIRA, A. O. B.; NASCIMENTO, E. P.; BEZERRA, D. P.; SERAFINI, M. R.; ARAÚJO, A. A. S. Caracterização físico-química e avaliação farmacológica do complexo de inclusão do óleo essencial da *Lippia pedunculosa* em β -ciclodextrina. IX Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria. Serra Negra – SP, 2014.

ASSINI, F.L. FABRÍCIO, E.J.; LANG, K.L. Efeitos farmacológicos do extrato aquoso de *Solidago chilensis* Meyen em camundongos. *Revista Brasileira de Plantas Mediciniais*, v.15, n.1, p.130-134, 2013.

BARBOSA-FILHO, J.M.; PIUVEZAM, M.R.; MOURA, M.D.; SILVA, M.S.; LIMA, K.B.; CUNHA, E.V.L.; FECHINE, I.M.; TAKEMURA, O.S. Anti-inflammatory activity of alkaloids: A twenty-century review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.16, n.1, p.109-139, 2006.

BARROS, F.E.V.; SOUSA, M.G.T.; COSTA, J.L.; OLEA, R.S.G.; FREIRE, S.M.F.; BORGES, A.C.R.; BORGES, M.O.R. Avaliação das atividades analgésica e anti-inflamatória do extrato metanólico de *Calotropis procera*, R. Br. (ciúme). *Infarma*, v.16, n.9-10, p.60-64, 2004.

BEIRITH, A.; SANTOS, A.R.S.; RODRIGUES, A.L.S.; CRECZYNSKIPASSA, T.B.; CALIXTO, J.B. Spinal and supraspinal antinociceptive action of dipyrone on formalin, capsaicin and glutamate tests. Study of the mechanism of action. *European Journal of Pharmacology*, v. 345, p. 233-245, 1998.

BESSA, N.G.F. BORGES, J.C.M.; BESERRA, F.P.; CARVALHO, R.H.A.; PEREIRA, M.A.B.; FAGUNDES, R.; CAMPOS, S.L.; RIBEIRO, L.U.; QUIRINO, M.S.; CHAGAS JUNIOR, A.F.; ALVES, A. Prospecção fitoquímica preliminar de plantas nativas do cerrado

de uso popular medicinal pela comunidade rural do assentamento vale verde – Tocantins. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, v.15, n.4, supl.I, p.692-707, 2013.

COLLIER, H.D.J.; DINNIN, L.C.; JOHNSON, C.A.; SCHNEIDER, C. The abdominal response and its suppression by analgesic drug in the mouse. *Br J Pharmacol Chemother.*32:295-310. 1968.

FERRÁNDIZ, M. L.; ALCARAZ, M. J. Anti-inflammatory activity and inhibition of arachidonic acid metabolism by flavonoids. *Agents and Actions*, v.32, p.283 – 288, 1991.

FREIRE, S.M.; EMIM, J.A.S.; LAPA, A.J.; SOUCCAR, C.; TORRES, L.M.B. Analgesic and anti-inflammatory properties of *Scoparia dulcis* L. extracts and glutinol in rodents. *Phytother. Res.*, v. 7, n.6, p.408-14, 1993.

GARCYA-LAFUENTE, A.; GUILLAMON, E.; VILLARES, A.; ROSTAGNO, M. A.; MARTYNEZ, J. A. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm. Res, Basel*, v. 58, p. 537-552, 2009.

HUNSKAAR, S.; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. *Pain*, v. 30, p. 103-114, 1987.

IKEDA, Y.; UENO, A.; NARABA, H.; OH-ISHI, S. Involvement of vanilloid receptor VR1 and prostanoids in the acid-induced writhing responses of mice. *Life Sci.*, V. 69, p. 2911-2919. 2001.

JHAVERI, M.D.; ELMES, S.J.; KENDALL, D.A.; CHAPMAN, V. Inhibition of peripheral vanilloid TRPV1 receptors reduces noxious heat-evoked responses of dorsal horn neurons in naïve, carrageenan-inflamed and neuropathic rats. *Eur. J. Neurosci.*, V. 22, p. 361-70, 2005.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; EJ, D. B. Acetic acid for analgesic screening. *Fed. Proc.*, v.18, p.412, 1959.

LUCENA, R.B.; RISSI, D.R.; MAIA, L.A.; FLORES, M.M.; DANTAS, A.F.M.; NOBRE, V.M.T.; RIET-CORREA, F.; BARROS, C.S.L. Intoxicação por alcaloides pirrolizidínicos em ruminantes e equinos no Brasil. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.30, n.5, p.447-452, 2010.

MA, W.; QUIRION, R. Inflammatory mediators modulating the transiente receptor potential vanilloid 1 receptor: therapeutic targets to treat inflammatory and neuropathic pain. *Expert. Opin. Ther. Targets*, v. 11, p. 307-320, 2007.

MARTINS, D. F. et al. The antinociceptive effects of AR-A014418, a selective inhibitor of glycogen synthase kinase-3 beta, in mice. *Journal of Pain*, v. 12, n. 3, p. 315-22. 2011.

MATTA, C. B. B.; CAVALCANTE-SILVA, L. H. A.; ARAÚJO JÚNIOR, J. X.; MIRANDA, G. E. C.; BASTOS, K.; SOUSA, J. C. F.; SANTOS, B. V. O.; BARBOSA-FILHO, J. M.; ALEXANDRE-MOREIRA, M. S. Antinociceptive and Anti-inflammatory Effects of *Caulerpa kempfi* (Caulerpaceae). *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 2, p. 730-743, 2015.

MESSIADES, D. M. da S. Estudo das Propriedades Biológicas, Fitoquímicas e Toxicológicas de *Aspidosperma pyrifolium* Mart. Dissertação de Mestrado. Campina Grande-PB: UEPB, 2014.

NUCCI, C. Potencial Terapêutico do Extrato Etanólico dos Frutos da *Pterodon pubescens* Benth. no Controle da Dor Aguda e Crônica. Dissertação de Mestrado. Florianópolis – SC: UFSC, 2014.

OOTANI, M. A.; AGUIAR, R. W.; RAMOS, A. C. C.; BRITO, D. R.; SILVA, J. B.; CAJAZEIRA, J. P. Use of Essential Oils in Agriculture. Journal of Biotechnology and Biodiversity, v.4, n.2, p. 162-174, 2013.

PAULA, C. S. Estudo Fitoquímico e Propriedades Biológicas das Folhas de *Bauhiniaun gulata* L., Fabaceae. Tese de Doutorado. Curitiba – PR: UFPR, 2014.

RANGE, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. Farmacologia. 7.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012.

SAHA, S.; HOSSAIN, F.; ANISUZZMAN, M.; ISLAM, M.K. Pharmacological evaluation of *Musa seminifera* Lour. Fruit. Journal of Integrative Medicine, v.11, n.4, p.253-251, 2013.

SANTOS, A. C. B.; SILVA, M. A. P.; SANTOS, M. A. F.; LEITE, T. R.; Levantamento etnobotânico, químico e farmacológico de espécies de ApocynaceaeJuss. ocorrentes no Brasil. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, v. 15, n.3, p.442-458, 2013.

SANTOS, M.V.; CARVALHO, C.B.; FAN, L.C.B.; MAGALHÃES, H.M. Variação cincardiana dos leucócitos, fibrinogênio e plaquetas no sangue de cães submetidos a processo inflamatório, tratados com escina. Ciência Rural, v.25, n.1, p.67-70, 1995.

SANTOS, P. B. Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Var. *cebil* (Gris.) Alts e Pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart. 2010. 46f. Dissertação (Zootecnia) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, Paraíba.

SOUSA, A.M.; FRANCO, P.A.B.; ASHMAWI, H.A.; POSSO, I.P. Local Effect of Tramadol on Formalin Evoked Flinching Behavior in Rats.Revista Brasileira de Anestesiologia, v.58, n.4, p.371-379, 2008.

TOLEDO, A. C. O.; HIRATA, L. L.; BUFFON, M. C. M.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Fitoterápicos: Uma Abordagem Farmacotécnica. Revista Lecta, v.21, n. 1/2, p. 7-13, 2003.

ANEXO 1

Documento emitido pelo Comitê de Ética em Uso de Animais do Centro de Ensino Superior e Desenvolvimento (CESED) da Faculdade de Ciências Sociais (FACISA) e Faculdade de Ciências Médicas (FCM) aprovando os métodos utilizados na pesquisa.



CENTRO DE ENSINO SUPERIOR E DESENVOLVIMENTO
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DE CAMPINA GRANDE
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA/CESED

PARECER

NÚMERO DO PROJETO: 0047/17102014

CIAEP/CONCEA Nº: 01.001.2012

DATA DO PARECER: 04/11/2014

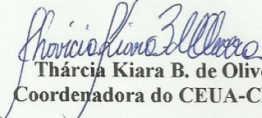
1. Pesquisador Responsável: Ana Cláudia Dantas de Medeiros

Título do Projeto: Desenvolvimento de uma solução oral com atividade analgésica a partir do extrato de *Aspidosperma Pyrifolium Mart.*

2. Considerações:

Após avaliação deste colegiado, verificou-se que o projeto em análise atendeu a todas as pendências anteriormente elencadas. Estando bem discriminado e coerente com as normas de utilização de animais. Cumprindo os requisitos da Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. O protocolo de pesquisa está devidamente preenchido, com todos os itens solicitados entregue a CEUA/CESED,

3. Parecer Final: APROVADO


Thárcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora do CEUA-CESED


Thárcia Kiara B. de Oliveira
Coordenadora CEUA/CESED

