



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

CLEILDO PEREIRA DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA A PARTIR DE EXTRATO DE *Ximenia americana* L.**

ORIENTADORA: Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE

2016

CLEILDO PEREIRA DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA A PARTIR DE EXTRATO DE *Ximenia americana* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Ana Cláudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE - PB

2016

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.

S232d Santana, Cleildo Pereira de.

Desenvolvimento de comprimidos com atividade antimicrobiana a partir de extrato de *Ximenia americana* L. [manuscrito] / Cleildo Pereira de Santana. - 2016. 89 p. : il. color.

Digitado.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2016.

"Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa".

1. Plantas medicinais. 2. Atividade antimicrobiana. 3. *Ximenia americana* L. 4. Fitoterápicos. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

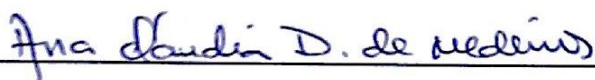
CLEILDO PEREIRA DE SANTANA

**DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS COM ATIVIDADE
ANTIMICROBIANA A PARTIR DE EXTRATO DE *Ximenia americana* L.**

Aprovado em: 26/02/2016

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual da Paraíba, para o curso de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

COMISSÃO EXAMINADORA



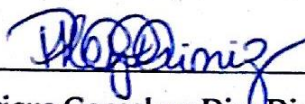
Prof. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros – Orientadora
Universidade Estadual da Paraíba



Prof. Dr. Rui Oliveira Macêdo – Examinador externo
Universidade Federal da Paraíba



Prof. Dra. Ana Paula Barreto Gomes – Examinadora externa
Universidade Federal do Rio Grande do Norte



Prof. Dr. Paulo Henrique Gonçalves Dias Diniz – Examinador interno
Universidade Estadual da Paraíba

“Milhares de velas podem ser acesas a partir de uma única vela, e sua vida não será encurtada. A alegria nunca diminui ao ser compartilhada.”

Gautama Buddha

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, pela orientação deste e de outros tantos trabalhos, e pela amizade ao longo desses anos;

À banca examinadora, pelo tempo dedicado à avaliação do trabalho e pelas contribuições;

À CAPES, pela bolsa concedida;

Às colegas do mestrado Alana, Célia, Marina, Fernanda Ílary, Carmélia, Marcela e Sabrina, pelo companheirismo;

Aos meus grandes amigos Lianne, Joanda, Gisele, Monik, Tamires, Diogo, Railza, George, Brenna e Malu, pelo apoio e incentivo constante;

Aos meus amigos do LABDEM: Fernanda Nóbrega, René, Alinne, Airlla, Jôffyli, Deysiane, Felipe, Thiago, Elaine, Jéssica, Iana, Pedro, Paulo Dantas e Ravelly, pelos ensinamentos, ajudas e risadas compartilhadas em vários momentos;

A Francinalva Medeiros, Paulo Diniz e Lidiane Correia, pela amizade e pela grande ajuda na execução deste trabalho;

Às minhas grandes amigas/família Ádria Carreiro e Sandra Carreiro, por compartilharem comigo momentos felizes e momentos não tão felizes, diariamente;

Aos meus irmãos César e Celiane, pelo apoio, incentivo e cuidado;

Aos meus amados pais, Ildo Evangelista de Santana e Maria Fátima Pereira de Santana, pela confiança, apoio, cuidado, e amor dedicado;

A Deus, por todas as bênçãos.

RESUMO

O uso de plantas para fins medicinais é uma tradição em diversas culturas, em todo o mundo, desde épocas remotas. Embora o conhecimento da medicina tradicional não seja mais tão intensamente difundido, a tradição do uso de plantas medicinais persiste na população, que frequentemente faz uso de medicamentos fitoterápicos, tradicionais ou industrializados. Diante do aumento do consumo deste tipo de produto, a indústria farmacêutica passou a demonstrar forte interesse no aperfeiçoamento dos métodos de produção de fitoterápicos em diversas formas farmacêuticas. Desta forma, este estudo se propôs a obter uma formulação do extrato nebulizado de *Ximenia americana* L., na forma de comprimido, e avaliar esta formulação quanto aos seus parâmetros de qualidade. O extrato, obtido pela secagem de uma solução extrativa hidroalcoólica, foi caracterizado quanto à sua composição fitoquímica e compatibilidade com diversos excipientes farmacêuticos, permitindo a seleção de excipientes que integraram formulações de comprimido. A formulação considerada mais adequada foi utilizada na obtenção de um lote de comprimidos, que foi caracterizado em relação aos seus parâmetros de qualidade. As formulações obtidas demonstraram fluxo excelente, sendo utilizadas na produção de comprimidos com peso médio de 302,20 mg, dureza média de 45,15 N, friabilidade de 0,34% e tempo de desintegração médio de 6 minutos e 8 segundos. Além disso, os comprimidos mostraram serem capazes de liberar cerca de 70% de seu conteúdo de extrato vegetal em 30 minutos, em meio próximo da neutralidade. Com isso, foi possível desenvolver uma forma farmacêutica para facilitar o uso medicinal desta planta pela população, além de avaliar as características de qualidade da formulação desenvolvida, no intuito de estabelecer maneiras de garantir a estas suas características de qualidade, segurança e eficácia.

Palavras-chave: Extrato nebulizado, estudo de compatibilidade, *Ximenia americana* L., comprimido, controle da qualidade, marcador químico.

ABSTRACT

The use of plants for medicinal purposes is a tradition in many cultures around the world, from ancient times. Although knowledge of traditional medicine is not as intensely widespread, the tradition of using medicinal plants persists in the population, which often makes use of herbal medicines, traditional or manufactured drugs. With the increase in the consumption of this type of product, the pharmaceutical industry has shown strong interest in the improvement of herbal production methods in various pharmaceutical forms. Thus, this study aimed to obtain a tablet formulation of *Ximenia americana* L. nebulized extract, and to evaluate this formulation as its quality parameters. The extract, obtained by drying of a water-alcohol extraction solution was characterized as to its phytochemical composition and compatibility with various pharmaceutical excipients, allowing the selection of excipients that integrated tablet formulations. The formulation that was considered most appropriate was used to obtain a batch of tablets, which was characterized with respect to its quality parameters. The formulations obtained demonstrated excellent flow and was used in the production of tablets with a mean weight of 302.20 mg, average hardness of 45.15 N, friability of 0.34% and average disintegration time of 6 minutes and 8 seconds. Furthermore, the tablets have been shown to be capable of releasing about 70% of its plant extract content by 30 minutes in medium around neutrality. Thus, it was possible to develop a pharmaceutical form to facilitate the medicinal use of this plant by the population, and to evaluate the quality characteristics of the formulation developed in order to establish ways to ensure its quality characteristics, safety and efficacy.

Keywords: Nebulized extract, compatibility study, *Ximenia americana* L., tablet, quality control, chemical marker.

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 01 – *Ximenia americana* L.: Planta e fruto..... 21

ARTIGO 01

Figura 01 – Perfis de DSC das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos (01)..... 34

Figura 02 – Perfis de DSC das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos (02)..... 35

Figura 03 – Perfis de TG das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos (01)..... 36

Figura 04 – Perfis de TG das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos (02)..... 37

Figura 05 – Espectros FTIR relativos às misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos..... 43

Figura 06 – Perfis de DRX relativos às misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos..... 45

ARTIGO 02

Figura 01 – Análise de especificidade..... 65

Figura 02 – Análise de especificidade: Comparação dos cromatogramas da formulação do comprimido, da matriz de excipientes e da mistura entre extrato, matriz e padrão de ácido gálico..... 66

Figura 03 – Análise de linearidade..... 66

Figura 04 – Dados do ensaio de peso médio..... 71

Figura 05 – Análise de especificidade..... 73

Figura 06 – Análise de linearidade..... 74

Figura 07 – Perfil médio de dissolução dos comprimidos e variações mínima e máxima..... 76

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 01

Tabela 01 – Dados de DSC do extrato nebulizado de <i>X. americana</i> e suas misturas binárias com excipientes farmacêuticos.....	47
Tabela 02 – Dados de TG do extrato nebulizado de <i>X. americana</i> e suas misturas binárias com excipientes farmacêuticos.....	48

ARTIGO 02

Tabela 01 – Concentrações de fitocompostos no extrato nebulizado de <i>X. americana</i>	64
Tabela 02 – Parâmetros de validação para o método cromatográfico de quantificação do marcador químico do extrato nebulizado de <i>X. americana</i> L.....	67
Tabela 03 – Concentrações percentuais dos componentes nas formulações propostas para o comprimido.....	68
Tabela 04 – Dados da caracterização dos pós no estudo de formulação.....	69
Tabela 05 – Dados da caracterização do lote de comprimidos obtido.....	72
Tabela 06 – Dados da análise de uniformidade de conteúdo por HPLC.....	72
Tabela 07 – Parâmetros de validação para o método espectrofotométrico de quantificação do extrato.....	75
Tabela 08 – Coeficientes de variação referentes aos ensaios de robustez do método de dissolução.....	78

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	13
2. OBJETIVOS.....	15
2.1. Objetivo geral.....	15
2.2. Objetivos específicos.....	15
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	16
3.1. Resistência antimicrobiana.....	16
3.2. Plantas medicinais na terapia antimicrobiana.....	20
3.3. <i>Ximenia americana</i> L.....	21
3.4. Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas.....	23
3.5. Padronização em medicamentos fitoterápicos.....	25
4. ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO EXTRATO NEBULIZADO DE <i>Ximenia americana</i> L. COM EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS UTILIZADOS EM COMPRIMIDOS.....	29
RESUMO.....	29
INTRODUÇÃO.....	30
MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
Preparação do extrato.....	31
Misturas binárias.....	32
Análise térmica.....	32
Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier.....	32
Difração de raios-X de pó.....	33
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
Análise térmica.....	33
Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier	42
Difração de raios-X de pó.....	44
CONCLUSÃO.....	46
AGRADECIMENTOS.....	46
REFERÊNCIAS.....	50
5. DESENVOLVIMENTO E PADRONIZAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDO DE <i>Ximenia americana</i> L.....	54
RESUMO.....	55
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAIS E MÉTODOS.....	57
Obtenção do extrato nebulizado de <i>X. americana</i> L.....	57

Determinação e quantificação do marcador químico <i>X. americana</i>	57
<i>Especificidade</i>	58
<i>Linearidade</i>	58
<i>Repetibilidade e precisão intermediária</i>	59
<i>Exatidão</i>	59
<i>Limites de detecção e quantificação</i>	59
Desenvolvimento da formulação.....	59
<i>Determinação do ângulo de repouso</i>	60
<i>Determinação das densidades bruta e de compactação, fator de Hausner, índice de densificação</i>	60
Desenvolvimento e padronização dos comprimidos <i>X. americana</i>	60
<i>Determinação do peso médio dos comprimidos</i>	61
<i>Determinação dureza</i>	61
<i>Avaliação da friabilidade</i>	61
<i>Determinação do tempo de desintegração</i>	61
<i>Avaliação uniformidade de conteúdo</i>	61
<i>Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de X. americana L</i>	62
<i>Desenvolvimento do método de quantificação</i>	62
<i>Especificidade</i>	62
<i>Linearidade</i>	62
<i>Repetibilidade e precisão intermediária</i>	62
<i>Exatidão</i>	63
<i>Limites de detecção e quantificação</i>	63
<i>Robustez</i>	63
<i>Determinação do perfil de dissolução</i>	63
RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
Determinação e quantificação do marcador químico <i>X. americana</i>	64
Desenvolvimento da formulação.....	68
Desenvolvimento e padronização dos comprimidos <i>X. americana</i>	70
Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de <i>X. americana L</i>	72
CONCLUSÃO	78
AGRADECIMENTOS	79
REFERÊNCIAS	79
6. CONCLUSÃO	83
7. REFERÊNCIAS	85

1. INTRODUÇÃO

Apesar do arsenal de antibióticos de que se dispõe atualmente, a busca por novos antimicrobianos adquiriu grande importância nos últimos tempos, devido principalmente ao surgimento de cepas resistentes aos tratamentos convencionais. Com base nisso, o conhecimento da medicina popular associado ao uso de plantas medicinais, que ainda são utilizadas por diversas populações do mundo para o tratamento de infecções, possuem uma importância fundamental no desenvolvimento de novos medicamentos (Koné et al., 2004).

Ximenia americana L. (*Olacaceae*), conhecida popularmente como ameixa-do-mato, é uma planta típica de regiões tropicais, sendo encontrada principalmente em regiões da África, Índia, Nova Zelândia, América Central e América do Sul (Brasileiro et al., 2008). Devido ao seu vasto uso medicinal, esta planta tornou-se objeto de estudo nos últimos tempos. Estudos realizados obtiveram indício de suas propriedades antiviral (Asres et al., 2001) e analgésica (Soro, Traore e Sakande, 2009). A atividade antimicrobiana da *Ximenia americana* L. é uma das mais estudadas. Esta planta se mostrou capaz de combater *in vitro* organismos de diversos gêneros (Omer e Elnima, 2003; James et al., 2007; Costa et al., 2010), corroborando com seu uso popular no combate a infecções.

Avanços na pesquisa de produtos desenvolvidos, tendo como insumo farmacêutico ativo (IFA) o material vegetal tornaram possível a elucidação de mecanismos de ação, estruturas moleculares e o conhecimento e perfis toxicológicos, além da realização de estudos pré-clínicos e clínicos destes produtos, permitindo a fabricação de medicamentos seguros, eficazes e de efeito reprodutível. (Yunes, Pedrosa e Filho, 2001).

Durante o desenvolvimento de um medicamento, é fundamental a avaliação da compatibilidade entre IFA e excipientes. Isto porque interações podem afetar a natureza química da composição, conseqüentemente sua segurança e eficácia (Tita et al., 2011). Também é de fundamental importância a aplicação de um controle de qualidade eficaz para que haja garantia dos benefícios advindos desses produtos

Diante disto, desenvolver um fitoterápico antimicrobiano, tendo como ingrediente ativo vegetal o extrato nebulizado padronizado de *X. americana* L. tem sua importância por representar a possibilidade da bioprospecção de novos produtos

farmacêuticos, utilizando o potencial terapêutico de uma planta medicinal presente no semiárido brasileiro.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral:

Obter uma formulação do extrato nebulizado de *Ximenia americana* L., na forma de comprimido, e avaliar esta formulação quanto aos seus parâmetros farmacopéicos de qualidade.

2.2. Objetivos específicos:

- Obter o extrato nebulizado de *X. americana* L.;
- Caracterizar o extrato nebulizado de *X. americana* L. quanto às suas propriedades de densidade, fluxo e compactação;
- Avaliar o comportamento do extrato nebulizado e de suas misturas binárias produzidas com excipientes farmacêuticos, através de técnicas termoanalíticas (DSC e TG);
- Obter os perfis espectroscópicos do extrato nebulizado e das misturas na região do infravermelho, para a verificação das possíveis interações entre estes;
- Analisar estas amostras por difração de raios-X, para a verificação das possíveis interações entre estes;
- Determinar e quantificar analiticamente o marcador químico da *X. americana* L., de acordo com os compostos químicos já identificados na planta;
- Desenvolver uma formulação de pós com o extrato nebulizado, com propriedades de compressão satisfatórias;
- Obter comprimidos de extrato de *X. americana* L., por compressão direta;
- Avaliar os parâmetros farmacopéicos de qualidade dos comprimidos produzidos;
- Estimar o prazo de validade da formulação obtida, através de termogravimetria isotérmica;
- Determinar o perfil de dissolução dos comprimidos obtidos.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Resistência antimicrobiana

A evolução de todas as espécies vivas foi, e continua sendo, determinada pelo princípio de sobrevivência do mais apto. Cada ser vivo desenvolveu seus próprios mecanismos de sobrevivência, sempre relacionados à adaptação ao ambiente em que vivem. Os microrganismos têm destaque nesse âmbito, pois sua rápida capacidade de reprodução é determinante para a transferência de mecanismos de sobrevivência entre gerações em um curto intervalo de tempo (Araújo et al., 2011).

Nunca houve algo de imprevisível relacionado ao fenômeno da resistência antimicrobiana. O próprio cientista Alexander Fleming, em seu discurso de recebimento do prêmio Nobel, declarou que “não é difícil tornar microrganismos resistentes à penicilina em laboratório, expondo-os a concentrações insuficientes para matá-los... existe, então, o risco de que um usuário ignorante possa facilmente se sub-mediar, e expondo seus microrganismos a quantidades não-letais, torná-los resistentes”. Três anos após as palavras de Fleming, cerca de 38% das cepas de *Staphylococcus aureus* encontradas em hospitais em Londres já eram resistentes a penicilina, e atualmente, esse percentual é de 90% (Huttner et al., 2013).

Quando condições do ambiente em que estão inseridas causa apenas um dano celular menos extenso em bactérias, mudanças são induzidas em seus fenótipos e expressão gênica, e o processo de adaptação passa a ocorrer rapidamente. Isso pode ocorrer quando substâncias antibióticas ou desinfetantes são utilizadas a baixas concentrações, por exemplo. A resistência se estabelece quando há insusceptibilidade, viabilidade ou multiplicação de um microrganismo, mesmo em presença de um determinado agente desinfetante (Araújo et al., 2011).

Três tipos de resistência microbiana são os mais conhecidos: resistência inerente, natural ou intrínseca; resistência adquirida, causada por uma determinada mutação ou associada à transferência de plasmídeos; e a resistência por adaptação, na qual uma espécie microbiana desenvolve resistência não só a um antibiótico, como também a substâncias da mesma classe. Outros fatores que conferem resistência a microrganismos são a formação de biofilmes, cujas substâncias poliméricas extracelulares conferem mecanismos de resistência tanto físicos quanto químicos; e a mudança em seu estado

metabólico, uma vez que estudos constataram que a mudança para a fase estacionária de crescimento é um fator de aumento de resistência, tanto para biofilmes quanto para bactérias em forma planctônica (Araújo et al., 2011).

Em 1969, descobriu-se em culturas bacterianas que a resistência a oxitetraciclina poderia ser transferida para cepas de *Salmonella enterica* a partir de animais de criação para abate. Diante disto, um relatório foi publicado na Inglaterra pelo Comitê Swann, chamando a atenção para o uso de antibióticos promotores de crescimento (APC) em animais de criação, no intuito de reduzir o risco do desenvolvimento de resistência de microrganismos a antibióticos utilizados na medicina humana. Com esta descoberta, a transmissão de resistência antimicrobiana entre outras espécies a partir de carne bovina continuou a ser detectada, sendo os *Enterococcus* resistentes à vancomicina uma das mais recentes e preocupantes descobertas. Outro fato preocupante é a constatação de que, o uso de antibióticos por fazendas de criação de animais provoca a disseminação de cepas multirresistentes para localidades vizinhas, sobretudo cepas de *Escherichia coli* (Cogliani, Goossens e Greko, 2011).

De uma forma geral, o surgimento e disseminação dessas cepas resistentes se dá por três fatores principais: a baixa dosagem utilizada em animais, que provoca a seleção de cepas resistentes; a resistência aos antibióticos em humanos, que ocorre pelo mesmo mecanismo que em animais; e a transmissão de genes de resistência destas cepas para as bactérias da flora intestinal humana. Além disso, a baixa concentração de antibióticos utilizada na criação de animais não só propicia, mas induz a mutagênese aleatória, que dá origem a genes de resistência. A pressão seletiva gerada por esses agentes não só é eficiente, como é também irreversível. (Cogliani, Goossens e Greko, 2011).

Estudos recentes apontaram a existência de espécies resistentes de *E. coli* (produtoras de KPC) e *Serratia marscescens* (produtoras de oxacilinase-48) em águas coletadas diretamente do ambiente, mostrando que o surgimento de cepas resistentes, atualmente, já ultrapassa os limites do ambiente hospitalar e criações de animais. De acordo com a *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network* (EARS-Net), a incidência de cepas de *Klebsiella pneumoniae* produtoras de KPC, entre os anos de 2005 e 2010, apenas aumentou em todo o território europeu. Este tipo de resistência é particularmente preocupante, não pelo fato de os carbapenêmicos serem antibióticos de última linha, mas também pelo fato de a produção de carbapenemases ser

constantemente associada à traços de resistência a aminoglicosídeos e flouroquinolonas (Magiorakos et al., 2013).

Enterococcus são microrganismos dotados de determinado potencial patogênico, entretanto, devido ao seu baixo nível de virulência, são comumente encontrados na flora intestinal humana e utilizados, com segurança, em produtos probióticos. Por outro lado, estas espécies possuem resistência natural a certos tipos de antibióticos, como cefalosporinas e aminoglicosídeos. Além disso, seus genomas facilmente mutáveis os conferem a capacidade de adquirir fatores de resistência de outras espécies, e com isso, desenvolverem uma extensa colonização do intestino, com frequente migração para outras mucosas. Infecções hospitalares por cepas de *Enterococcus* resistentes a ampicilina e vancomicina tem sido reportadas em países como Holanda, Suécia, Estados Unidos e também na América Latina. O surgimento dessas cepas tem sido associado ao uso indiscriminado de vancomicina e antibióticos de amplo espectro, e as infecções nosocomiais mais reportadas são pelas espécies *E. faecalis* e *E. faecium*. O fato de estas espécies sobreviverem por um considerável intervalo de tempo em superfícies e objetos aponta uma possível causa para a contaminação entre pacientes, ao mesmo tempo em que denuncia a parcela de culpa dos profissionais de saúde na transmissão de cepas resistentes (Arias e Murray, 2012).

A detecção de Gram-negativos produtores de carbapenemases, enterobacteriaceae produtoras de New-Delhi-metallo-protease-1 (NDM-1), e *K. pneumoniae* produtoras de oxacilinase-48 (OXA-48) levou os Centros de Prevenção e Controle de Doenças (CDCs) dos Estados Unidos a promover uma conferência em março de 2013, reportando que estas bactérias haviam quadruplicado sua incidência em todo o país em apenas uma década, apresentando índices de mortalidade entre 40 e 50%. Apenas nos Estados Unidos, o custo do tratamento destas infecções resistentes é estimado em cerca de 55 bilhões de dólares (Huttner et al., 2013).

O atual panorama mundial da resistência antimicrobiana é alarmante, e apesar de o surgimento dos antibióticos ter conferido a estes a alcunha de “drogas milagrosas”, a eminência de um retorno à era “pré-antibióticos”, devido a microrganismos resistentes, torna urgente a tomada de medidas para a conservação do “milagre” desses fármacos. As principais medidas a serem tomadas consistem em: vigilância, definindo a extensão e natureza da resistência em ambientes críticos, como hospitais e comunidades; educação, tanto de profissionais da saúde, quanto de fornecedores, usuários de

antibióticos, no sentido de melhorar sua prescrição e uso; controle e prevenção de infecções, por meio de estratégias eficientes de desinfecção, vacinação, procedimentos invasivos, etc.; regulação da prescrição e dispensação de antimicrobianos e, por fim, investimentos em pesquisa de novos antimicrobianos (Gottlieb e Nimmo, 2011).

Nunca houve um momento em que a pesquisa para o desenvolvimento de antimicrobianos se fez tão necessária. A pesquisa pré-clínica fornece novos agentes, associações e formas de tratamento. A pesquisa clínica avalia a segurança e eficácia desses agentes, bem como otimiza o regime de dosagens, enquanto a pesquisa de implementação avalia o impacto dessa implementação sobre a resistência a níveis de comunidades. Todas as instâncias da pesquisa se fazem extremamente necessárias.

Entretanto, a pesquisa em antimicrobianos não tem recebido o devido foco. Tomando o Reino Unido como exemplo: dentre os 2,6 bilhões de libras investidos em pesquisa para doenças infecciosas entre 1997 e 2010, apenas 102 milhões (cerca de 3,9%) foi destinado à pesquisa em resistência antimicrobiana. Os principais focos destas pesquisas são relacionados a resistência estafilocócica, seguido por malária e HIV, não havendo investimento representativo em pesquisas relacionadas à resistência por bactérias Gram-negativas. A criação de colaborações entre os setores público e privado para a potencialização destas pesquisas se faz importante, uma vez que representam interesses de ambos os órgãos (Head, Fitchett e Atun, 2014).

Se faz necessário, e urgente, o desenvolvimento de novas formas de prevenir e tratar infecções resistentes. O uso de antibióticos, na forma indiscriminada que é aplicado atualmente, é o principal fator a criar uma pressão seletiva sobre os microrganismos. A produção anual de antibióticos somente pelos Estados Unidos saltou de menos de 1 milhão de kg em 1954 para mais de 16 milhões de kg em 2013 (Huttner et al., 2013). Mas o panorama se tornou ainda pior com a descoberta de que não só o uso de antimicrobianos é responsável pelo desenvolvimento de resistência antimicrobiana, mas também a própria evolução inerente das espécies com o passar do tempo. Recentemente, bactérias descobertas em cavernas geologicamente isoladas da superfície terrestre por mais de 4 milhões de anos apresentaram resistência a antimicrobianos sintéticos que só passaram a existir no século XX. Esta informação leva à alarmante evidência de que mecanismos de resistência já existem, e estão difundidos na natureza, a antimicrobianos que ainda não foram sequer inventados (Spellberg, Bartlett e Gilbert, 2013).

3.2. Plantas medicinais na terapia antimicrobiana

Diante da urgente problemática da resistência antimicrobiana, dentre as novas estratégias que tem sido propostas, destaca-se a pesquisa e a utilização de plantas medicinais na terapia antimicrobiana. A utilização destas fontes vegetais não representa, exatamente, uma novidade, uma vez que cerca de 30% dos fármacos utilizados na medicina moderna derivam direta ou indiretamente de plantas, e estas, além disso, dominam as ciências das medicinas homeopática e ayurvédica (Chowdhury et al., 2013).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), mais de 80% da população mundial recorre a plantas medicinais em seus cuidados primários à saúde. Esse tipo de recurso é utilizado pela humanidade há pelo menos cinco mil anos, segundo manuscritos encontrados na China, Índia e norte da Ásia (Vashist e Jindal, 2012).

Diferentemente de IFAs sintéticos, o uso de plantas medicinais na terapia antimicrobiana não está relacionado à resistência, e além disso, em geral causam efeitos adversos de menor extensão e intensidade. A associação entre extratos vegetais e antimicrobianos sintéticos tem sido estudada como uma alternativa na modulação de resistência antimicrobiana, com estudos apontando sinergismo entre estes compostos frente a cepas multirresistentes (Chanda e Rakholiya, 2011). Diversos mecanismos são propostos para justificar esse tipo de interação, principalmente relacionados às diversas classes de fitocompostos e sua capacidade de interagir com estruturas da célula microbiana (Fabri e Costa, 2012).

A busca por antimicrobianos em fontes naturais já ultrapassa, inclusive, o reino vegetal. Potencial antimicrobiano foi encontrado em líquens, principalmente, frente a bactérias Gram-positivas, com diferenças em relação à fração do extrato analisada (Javeria et al., 2013).

O ponto-chave do uso de plantas medicinais na terapia antimicrobiana é o fato de que a variedade de compostos presentes em extratos vegetais pode garantir uma ação sobre a célula microbiana por meio de mais de uma via, e a atividade antimicrobiana resultante pode ser fruto de uma interação intrínseca entre esses compostos.

Em geral, a pesquisa farmacológica em plantas medicinais tem como objetivo o isolamento ou descoberta de moléculas ativas dessas plantas, entretanto, esta abordagem reducionista muitas vezes pode dificultar, retardar e encarecer o uso destas plantas pela população, sob a forma de medicamentos, além de privar estes produtos das interações benéficas entre os fitocompostos. Assim, não é raro encontrar estudos dessa natureza a concluir que a atividade antimicrobiana de um determinado extrato vegetal foi maior que a de suas moléculas isoladas (Van Vuuren e Viljoen, 2011).

3.3. *Ximenia americana* L.

O gênero *Ximenia*, pertencente à família Olacaceae, compreende cerca de oito espécies, sendo *X. americana* (Ameixa-do mato) a mais comumente encontrada. Esta espécie ocorre mundialmente, principalmente em regiões tropicais da África, Índia, sul da Ásia, Austrália, Nova Zelândia, Américas Central e do Sul. É adaptada a climas semiáridos, ocorrendo em cerrados, mas também às margens de rios, e até a altitudes superiores a 2.000 m acima do nível do mar (Feysa et al., 2012).

Em comunidades nas áreas em que ocorre, esta planta é utilizada principalmente para fins medicinais e alimentares, sendo este último referente principalmente aos frutos (Figura 01). Popularmente, a casca da planta é utilizada para o tratamento de doenças como hepatite e malária, sob a forma de chá. A casca pulverizada é aplicada sobre feridas para finalidades antisséptica e cicatrizante. O decocto da casca é usado também no tratamento dos efeitos de picadas de cobra (Feysa et al., 2012).

Figura 01 – *Ximenia americana* L.: Planta e fruto



As folhas são vastamente utilizadas, para fins medicinais, principalmente sob a forma de infusão, imersão e cataplasma, as principais utilizações desta planta são para o tratamento de infecções, ferimentos, desordens ginecológicas, e para fins cicatrizantes (Ribeiro et al., 2014).

O óleo extraído das sementes da *X. americana* é frequentemente utilizado topicamente, para fins cosméticos, e sobre cortes, como antisséptico. Internamente, o óleo é utilizado como contraceptivo e no tratamento de hepatite, dores renais e abdominais. Devido a sua composição majoritária de ácidos graxos saturados e monoinsaturados, este óleo é relativamente estável à oxidação. A presença também de ácidos graxos insaturados agrega a este um considerável valor nutricional (Feysa et al., 2012).

Pela sua popular utilização para finalidades antissépticas, o potencial antimicrobiano desta planta tem sido objeto de estudo por diversos autores. A atividade antimicrobiana já foi demonstrada frente a cepas de *Neisseria gonorrhoea*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, entre outras (Monte et al., 2012). Um estudo realizado por Silva et al. (2012) mostrou a atividade da *X. americana* no combate a microrganismos da cavidade bucal, como *Enterococcus faecalis* e *Streptococcus oralis*.

Além da atividade antimicrobiana intrínseca dos extratos desta planta, Silva et al. (2015) demonstraram que a *X. americana* possui a capacidade de modular a resistência antimicrobiana de cepas resistentes de *Staphylococcus aureus* à eritromicina, indicando um potencial importante na associação entre esta planta e antibióticos sintéticos na terapêutica.

Estudos relacionados à ação antipirética da *X. americana*, apontada pelo uso popular, demonstrou que este efeito está presente no extrato desta planta e em todas as suas frações. Um fato interessante relatado pelo estudo foi que, ao contrário do fármaco utilizado como referência, os extratos da planta não provocaram queda da temperatura corporal abaixo do normal, sendo considerados mais eficazes na manutenção da hipotermia. Esta ação é relacionada à composição do extrato, tendo as saponinas como possíveis responsáveis, devido a sua capacidade de inibir a ação de diversas prostaglandinas (Soro et al., 2015).

A atividade anti-inflamatória desta planta já foi demonstrada em estudos, principalmente através do método de indução de edema de pata por carragenina em cobaias, com porcentagem de inibição de até 60% após 4 horas. Este resultado aponta uma importante atividade anti-inflamatória desta planta, que corrobora com os efeitos observados pelo uso popular (Siddaiah et al., 2012).

3.4. Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas

Atualmente, cerca de 80% dos medicamentos produzidos por indústrias farmacêuticas é sob a forma de comprimidos. Esta forma farmacêutica combina propriedades importantes: baixo custo de produção, facilidade de produção, versatilidade (por serem produzidos numa infinidade de formas tamanhos, dosagens e composições), elevadas estabilidades física, química e microbiológica, quando comparados a formas líquidas e semi-sólidas, além de serem preferidos pela população por seu fácil armazenamento, consumo e por mascarar características organolépticas desagradáveis de determinados insumos farmacêuticos ativos (Gallo et al., 2013).

Na formulação de comprimidos, bem como de qualquer forma farmacêutica, é de fundamental importância a escolha racional dos componentes a serem utilizados na formulação. Esta escolha é realizada na etapa denominada de pré-formulação, na qual são analisadas as propriedades físico-químicas do IFA e de excipientes farmacêuticos. A seleção dos componentes da formulação deve ter como critério, principalmente, a compatibilidade entre estes (Bharate, Bharate e Bajaj, 2010).

Apesar de os excipientes farmacêuticos serem popularmente tidos como “inertes”, sabe-se que, na realidade, cada um deles desempenha ativamente uma função específica na formulação. As características físico-químicas de cada excipiente determinam, para estes, um potencial de interação quando combinados com determinados IFAs. Quando esta interação, química ou física, acarreta alteração qualitativa ou quantitativa do IFA, ocorre perda de estabilidade ou de eficiência da formulação, e a combinação entre estas substâncias é apontada como incompatível (Bharate, Bharate e Bajaj, 2010).

Detectar incompatibilidades entre IFAs e excipientes farmacêuticos é o principal objetivo do estudo de pré-formulação. Em se tratando de comprimidos, a reduzida atividade de água na forma farmacêutica é um fator que favorece a estabilidade, pois a

presença de umidade muitas vezes é requisito para a ocorrência de determinada interação. Na produção de comprimidos, o conteúdo de água na formulação pode inclusive inviabilizar o processo de manufatura (Tomassetti et al., 2005).

Se por um lado, os comprimidos possuem a vantagem da baixa atividade de água para minimizar interações entre seus componentes, a pressão mecânica aplicada na sua obtenção as potencializa, uma vez que aumenta, e muito, o contato entre as partículas. São conhecidos diversos exemplos de interações entre substâncias em estado sólido na formulação de medicamentos. Os principais mecanismos conhecidos são para a reação de Maillard, hidrólises ácida e básica, complexação, dimerização e formação de sais, oxidação, desnaturação de cadeias de glicosídeos e proteínas, entre outros. (Bharate, Bharate e Bajaj, 2010)

Uma vez detectado o potencial de interação entre um IFA e um excipiente farmacêutico, é possível tomar medidas para evitar ou abrandar os efeitos dessa interação. Para esta detecção, técnicas analíticas modernas são amplamente utilizadas em estudos de pré-formulação.

Técnicas termoanalíticas como a calorimetria diferencial exploratória (DSC) e a termogravimetria (TG) são há muito utilizadas por pesquisadores para a caracterização de diversos tipos de materiais, por permitirem a rápida obtenção de resultados, com pequeno gasto de amostra, por procedimentos experimentais relativamente simples. Recomenda-se que os resultados obtidos por técnicas termoanalíticas sejam complementados por outros, obtidos através de outras técnicas, como a espectroscopia no infravermelho (IR), difração de raios-X (XRD), ressonância magnética nuclear (NMR), microscopia em plataforma aquecida (HSM), entre outras (Neto, Novák e Matos, 2009).

Na análise de compatibilidade entre IFA e excipientes, a técnica analítica que lidera em uso é o DSC, que consegue evidenciar interações entre componentes mesmo a níveis muito baixos, devido à sua alta sensibilidade quando comparado a outras técnicas termoanalíticas, e possibilita inclusive a análise de substâncias voláteis em experimentos de resfriamento. A detecção de interações entre os componentes se dá pelo aparecimento, deslocamento ou desaparecimento de picos endotérmicos ou exotérmicos, bem como alterações em seus valores de entalpia (Tița et al., 2011).

O método mais utilizado para a verificação de incompatibilidades entre IFA e excipientes é a aplicação de sistemas de misturas binárias. Nestes casos, misturas entre

os componentes são produzidas na proporção 1:1 (ou outras), com ou sem a adição de água. As misturas podem ser, então, submetidas a condições de estresse (como altas temperaturas, umidade ou radiação) por determinados períodos de tempo. Submetidas ou não a estas condições, as misturas são analisadas por métodos adequados, sendo a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), acoplada a detectores de interesse, uma técnica analítica adotada praticamente como via de regra; é estudada então a composição da mistura após a ocorrência de interação. A principal vantagem desse método de estudo, além do pouco gasto de amostra, consiste na possibilidade de avaliação de incompatibilidade para cada excipiente considerado, o que otimiza a seleção dos componentes mais adequados para a formulação (Bharate, Bharate e Bajaj, 2010).

3.5. Padronização em medicamentos fitoterápicos

Embora o uso de plantas medicinais na terapêutica tenha sido posto em segundo plano por uma considerável parte da população mundial, com o advento de medicamentos sintéticos e a expansão da indústria farmacêutica, principalmente depois da década de 1980, o mercado mundial de drogas vegetais e fitoterápicos representa uma parcela significativa dos medicamentos vendidos. No ano de 2005, este mercado movimentou cerca de U\$ 18 bilhões, sendo a China e a Índia os principais exportadores (mais de 150 mil toneladas de produtos) e a Europa o principal importador (cerca de 400 mil toneladas). O mercado de fitoterápicos continua em rápida expansão, com cada vez mais pessoas afirmando sua confiança na eficiência das plantas no tratamento de diversas enfermidades (Khan e Rauf, 2014).

O aumento do uso de plantas medicinais pela população implica no interesse, e na necessidade, por parte da indústria farmacêutica, em aprimorar os processos de desenvolvimento e produção de fitoterápicos.

Esse aumento também motivou diversas agências em todo o mundo, a exemplo do FDA (*Food and Drug Administration* – EUA) e da OMS (Organização Mundial da Saúde), a implementar guias para a regulamentação destes produtos, com enfoque no estabelecimento e padronização de suas características de qualidade, segurança e eficácia. As agências apontam a necessidade de realização de ensaios pré-clínicos e clínicos com produtos fitoterápicos, aplicando-se rigorosas metodologias

cientificamente consistentes, a fim de avaliar a eficácia e segurança (Denbath, Kumar e Chandu, 2011).

O controle da qualidade de produtos derivados de plantas passa, atualmente, por um momento de importante desenvolvimento. O surgimento de novas técnicas analíticas e o aprimoramento daquelas já existentes e conhecidas permite a aplicação de metodologias válidas na caracterização de drogas vegetais, permitindo o conhecimento de sua composição química e características físicas (Khan e Rauf, 2014).

Entretanto, a composição complexa e variável das drogas vegetais por vezes dificulta sua caracterização, e desta forma, muitos estudos passam a negligenciar esta etapa. Uma revisão de pesquisas realizada em 2008 apontou que, dentre as publicações avaliadas a respeito de ensaios farmacológicos com plantas medicinais, apenas 15% realizaram medidas da composição química destes produtos. A falta de reprodutibilidade dos resultados obtidos pode ser causada pela não-uniformidade entre lotes desses produtos; e sem a aplicação de um controle da qualidade eficaz, não há como eliminar essa variável dos estudos (Obodozie, 2012). O mercado de fitoterápicos se expande rapidamente, e antes do consumo destes medicamentos se tornar ainda mais expressivo, as dificuldades encontradas em seu controle da qualidade precisam ser superadas.

A padronização de insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs) é o primeiro passo no desenvolvimento de fitoterápicos com qualidade (Denbath, Kumar e Chandu, 2011). A padronização consiste na implementação de um sistema capaz de assegurar características predefinidas de quantidade, qualidade e efeito terapêutico em um determinado IFAV. A autenticação e caracterização do IFAV estudado garante a reprodutibilidade na produção do medicamento fitoterápico. A padronização geralmente inclui a autenticação botânica, análise macro e microscópica, estudo da composição química por métodos cromatográficos e avaliação da atividade farmacológica (Choudhary e Sekhon, 2011).

Técnicas analíticas modernas possuem aplicabilidade na padronização de IFAVs, sendo as mais utilizadas a cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), cromatografia em camada delgada de alta eficiência (HPTLC), HPLC acoplada a espectroscopia de massas (LC-MS), cromatografia gasosa acoplada a espectroscopia de massas (GC-MS), cromatografia de fluido supercrítico (SFC), eletroforese capilar (CE), técnicas termoanalíticas, difração de raios-X de pó (XRPD), espectroscopia no

infravermelho médio, infravermelho próximo e ultravioleta-visível, entre outras, cada uma com suas particularidades, aplicabilidades, e necessidades de adaptação de métodos (Gatkal et al., 2012).

Uma forma de realizar a padronização de IFAVs quando o componente responsável pela sua atividade biológica não é conhecido, é a determinação de um marcador químico no derivado vegetal. Nestes casos, esta substância, conhecida qualitativamente e quantitativamente, é tomada como referência para análises e a totalidade da composição do IFAV é tomada como “substância ativa”. O marcador químico não necessariamente apresenta alguma atividade biológica (Garg et al., 2012).

Métodos cromatográficos são os mais utilizados para a análise de marcadores químicos. Entretanto, estes métodos devem se mostrar eficientes na separação, quantificação e detecção destas substâncias mesmo em níveis baixos, para verificar supostas adulterações em IFAVs, e ainda serem capazes de possibilitar estes estudos tanto no IFAV, quanto no medicamento acabado (Shobhen e Patel, 2011).

ARTIGO 01

4. Estudo de compatibilidade do extrato nebulizado de *Ximenia americana L.* com excipientes farmacêuticos utilizados em comprimidos

ESTUDO DE COMPATIBILIDADE DO EXTRATO NEBULIZADO DE *Ximenia americana* L. COM EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS UTILIZADOS EM COMPRIMIDOS

Cleildo P. Santana¹, Deysiane O. Brandão¹, Felipe H. A. Fernandes¹, Paulo C. D. Silva²,
Lidiane P. Correia², Ana C. D. Medeiros^{1,2*}

¹Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos, Universidade Estadual da Paraíba, Rua Baraúnas, 351, Cidade Universitária, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil.

²Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Rua Baraúnas, 351, Cidade Universitária, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil.

RESUMO

Ximenia americana L. é uma planta da família Olacaceae, utilizada no tratamento de doenças infecciosas. Extratos nebulizados são insumos farmacêuticos ativos vegetais de grande interesse para a indústria farmacêutica, e têm sido utilizados como produtos finais e intermediários, na obtenção de diferentes formas farmacêuticas. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a compatibilidade do extrato nebulizado de *X. americana* L. com excipientes farmacêuticos utilizados em formas sólidas. Foram analisadas misturas binárias com o extrato e excipientes farmacêuticos. Os estudos foram realizados utilizando análise térmica, difração de raios-X e espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier. A análise de difração de raios-X mostrou alterações no perfil de misturas com amido de milho, lactose e estearato de magnésio, o que sugere incompatibilidade. Este estudo mostrou a importância do uso de técnicas analíticas instrumentais nas fases iniciais de desenvolvimento do fitoterápico, sendo fundamentais para a avaliação da compatibilidade entre excipientes farmacêuticos e ingrediente ativo e para selecionar os componentes para a produção de um medicamento fitoterápico.

Palavras-chave: Extrato nebulizado, estudo de compatibilidade, análise térmica, difração de raios-X, espectroscopia no infravermelho.

INTRODUÇÃO

Ximenia americana L. (Olacaceae) é uma planta típica dos trópicos, sendo encontrada principalmente em partes da África, Índia, Nova Zelândia, América Central e América do Sul (Brasileiro et al., 2008). É amplamente utilizada na medicina popular destas regiões, e suas raízes são usadas como antisséptico e para tratar a febre, icterícia, dores de cabeça e doença mental (Mevy et al., 2006). Estudos obtiveram evidências de suas propriedades antiviral, analgésica e antimicrobiana, corroborando com a sua utilização popular no combate de infecções (Asres et al., 2001; Omer e Elnima, 2003; James et al., 2007; Soro, Traore e Sakande, 2009; Costa et al., 2010; Silva et al., 2012; Silva et al., 2015).

Estudos preliminares indicaram que o extrato etanólico de *Ximenia americana* L. tem como seus principais componentes taninos, flavonóides, alcalóides, saponinas, antraquinonas, amido, glicosídeos e princípios amargos (Ogunleye e Ibitoye, 2003). Na composição do óleo essencial foram identificados 33 constituintes, sendo 69,0% de aromáticos, 12,5% de compostos lipídicos e 13,0% de terpenóides (Mevy et al., 2006). No óleo de sementes, alguns dos seus componentes foram identificados como ácidos graxos insaturados tais como o ácido linoleico, ácido linolênico e ácido araquidônico (Brasileiro et al., 2008). Outros autores indicam a forte presença de vitamina C (Silva et al., 2008).

Na indústria farmacêutica a utilização de adjuvantes tecnológicos adequados, juntamente com a tecnologia de *spray drying*, representa um passo importante na garantia da estabilidade e qualidade adequadas de um extrato vegetal (Medeiros, Medeiros e Macêdo, 2002). Recomenda-se a incorporação destes extratos nebulizados em formulações, uma vez que são facilmente obtidos, padronizados e podem ser integrados em formas de dosagem. Estes extratos também têm alta estabilidade microbiológica, química e físico-química (Oliveira e Petrovick, 2010).

Estudos de pré-formulação são conduzidos de modo a permitir a detecção de alterações químicas na formulação de um composto, mesmo a níveis muito baixos (Borchardt, 1998). Para a análise de sólidos, o método deve ser escolhido de acordo com a propriedade a ser investigada. Na maioria dos estudos desta natureza, estão associadas técnicas de caracterização de partículas (tal como a difração de raios-X) e

técnicas de caracterização molecular (tal como a espectroscopia no infravermelho) (Chieng, Rades e Aaltonen, 2011).

Neste estágio do desenvolvimento farmacotécnico, é necessário avaliar a compatibilidade entre IFA e excipientes. Isto é porque as interações podem afetar a natureza da composição química, e conseqüentemente, a sua segurança e eficácia (Tita et al., 2011).

Neste contexto, alguns autores têm mostrado a aplicação da análise térmica em tecnologia farmacêutica e no estudo de compatibilidade de medicamentos (Medeiros et al., 2001; Santos et al., 2008; Procópio et al., 2011; Oliveira et al., 2011;; Silva et al., 2015) e na padronização e caracterização de extratos de plantas medicinais (Medeiros et al., 2002; Aragão et al., 2002; Correia et al., 2013; Fernandes et al., 2013; Fernandes et al., 2016 Correia et al., 2016).

O objetivo deste estudo foi avaliar a compatibilidade do extrato nebulizado de *Ximenia americana* L. com excipientes farmacêuticos utilizados na formulação de formas sólidas, utilizando-se técnicas termoanalíticas, difração de raios-X e espectroscopia na região do infravermelho.

MATERIAIS E MÉTODOS

Preparação do extrato

A casca da *Ximenia americana* L. (AMCA) foi coletada na região semiárida do Estado da Paraíba (7°08'33,8" S; 36°06'21,1" W). A exsicata foi preparada e identificada no herbário Professor Jayme Coelho de Moraes (PRU) da Universidade Federal da Paraíba, sob o número EAN-100493. O material vegetal foi seco a 40 °C. O extrato hidroalcoólico foi obtido por maceração a frio, com 200 g da casca pulverizada em 1000 mL de solução hidroalcoólica (70% v/v), durante cinco dias. Em seguida, a secagem da solução extrativa foi realizada em *spray dryer*, com temperatura inicial de 120 °C e final entre 90 e 95 °C. Dióxido de silício coloidal foi usado como estabilizante para a preparação do extrato nebulizado.

Misturas binárias

As misturas binárias foram preparadas em diferentes proporções, utilizando-se o extrato nebulizado (AMCA) e os seguintes excipientes: amido de milho (CS), lactose (LA), celulose microcristalina 101 e 102 (MC 101 e 102), estearato de magnésio (MS), polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30), talco (TAL), dióxido de silício coloidal (CSD), glicolato de amido sódico (SSG), amido pré-gelatinizado (PGS) e croscarmelose sódica (CRO). Os estudos de compatibilidade foram obtidos usando misturas binárias nas seguintes proporções (m/m): 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10 para CS, MC 101, MC 102 e LA, e 1:1, 1:2 e 2:1 para PVP K-30, TAL, MS, CSD, SSG, PGS e CRO.

Análise térmica

As curvas de DSC foram obtidas num calorímetro TA Instruments, modelo DSC Q20, utilizando cadinhos de alumínio com cerca de $2 \pm 0,1$ mg de amostra, sob uma atmosfera de nitrogênio (N_2), com fluxo de 50 mL min^{-1} . Os experimentos foram realizados entre as temperaturas de 25 e $400 \text{ }^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. Índio (ponto de fusão $156,6 \text{ }^\circ\text{C}$) foi utilizado como padrão para a calibração do equipamento. Os dados foram analisados usando o software TA Universal Analysis 2000, 4.7A.

As curvas termogravimétricas não isotérmicas foram obtidas em uma termobalança simultânea TG/DTA, modelo Q600 (TA Instruments), utilizando cadinhos de alumina, com cerca de $8 \pm 0,1$ mg de amostra, em atmosfera de nitrogênio (50 mL min^{-1}). Os experimentos foram realizados entre as temperaturas de 25 e $900 \text{ }^\circ\text{C}$, com razão de aquecimento de 10 min^{-1} . O equipamento foi calibrado com oxalato de cálcio monohidratado.

Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises foram realizadas utilizando um espectrofotômetro Spectrum 400 (Perkin Elmer®) FTIR/FTNIR Spectrometer. Os espectros das amostras foram obtidos na faixa entre 4000 e 500 cm^{-1} , com uma resolução de 4 cm^{-1} , utilizando amostras na forma de pó.

Difração de raios-X de pó (XRPD)

As análises de XRPD foram realizadas num difratômetro DRX 6000 (Shimadzu), com varredura entre 10 e 50° (2° min⁻¹) na escala 2θ, e radiação de Cu (Kα1). O equipamento foi utilizado a 40,0 kV e 30,0 mA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Análise térmica

Os dados térmicos do extrato nebulizado de *X. americana* L. e seus sistemas binários são apresentados nas figuras 1 e 2, e descritos nas tabelas 1 e 2. Os dados de DSC do extrato de *X. americana* L. (Figura 1A) demonstraram a presença de um pico endotérmico à temperatura de 83,60 °C ($\Delta H = 270,50 \text{ J g}^{-1}$), provavelmente relacionado com a perda de constituintes voláteis da amostra, tais como etanol e água. Este evento, mostrado na curva termogravimétrica (Figura 3A), corresponde à perda de 8,16% da massa da amostra. O processo de decomposição dos compostos orgânicos começa em 197,32 °C, e continua até ao fim do intervalo analisado, o que representa uma perda de 46,68% da massa da amostra, resultando num resíduo de 43,52%. Este resíduo é significativo, provavelmente devido ao conteúdo do adjuvante de secagem Aerosil® 200 (20,00%), que além de aumentar a estabilidade do extrato, é muito estável (p. f.: 1600,00 °C) (Rowe, Sheskey e Quinn, 2009).

De acordo com os resultados, a maior parte das misturas entre extrato e excipientes não apresentam variações significativas nos perfis térmicos esperados. Os valores de entalpia variaram proporcionalmente aos teores das substâncias presentes. Algumas alterações relativas a entalpia são esperadas em tais experimentos, devido a problemas na uniformidade de conteúdo de pequenas amostras utilizadas nas análises DSC (Maximiniano et al., 2011).

O perfil de DSC amido de milho exibiu um primeiro pico endotérmico a 150,79 °C, não existindo um evento relacionado ao processo de gelatinização. As diferenças no comportamento térmico de diferentes lotes de amido de milho são explicadas pelo fato de que os amidos de diferentes fontes de plantas diferem na proporção de amilose/amilopectina. Estas diferenças modificam as propriedades físicas dos amidos, e

os vários tipos podem não ser intermutáveis para uma dada aplicação farmacêutica (Souza, Barreto e Macêdo, 2001).

Figura 01 – Perfis de DSC do extrato nebulizado de AMCA (A) e misturas binárias com excipientes farmacêuticos: amido de milho (B), lactose (C), celulose microcristalina 101 (D) e 102 (E) e estearato de magnésio (F)

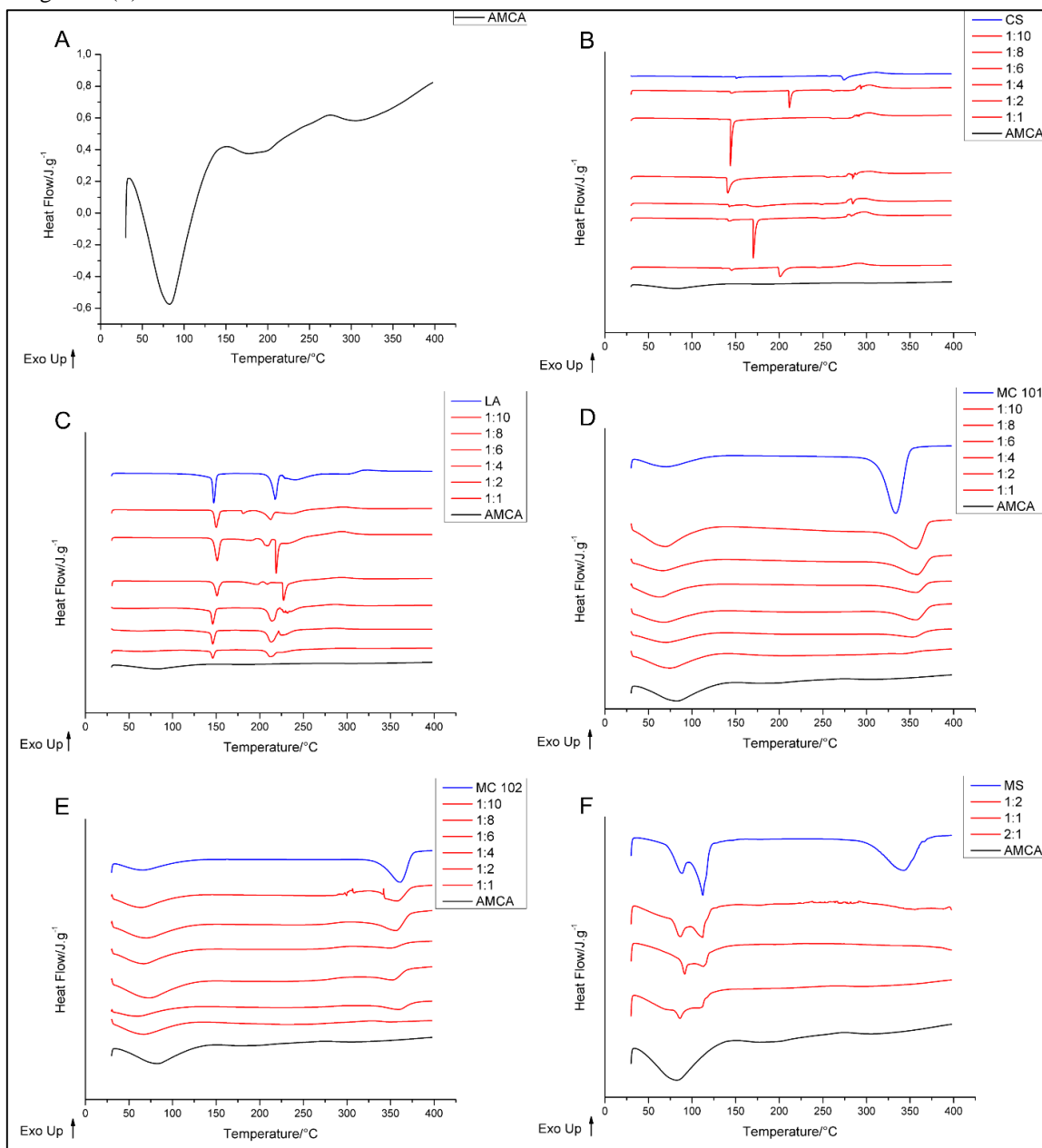


Figura 02 – Perfis de DSC das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos: PVP K30 (A), talco (B), dióxido de silício coloidal (C), amidoglicolato de sódio (D), amido pregelatinizado (E) e croscarmelose sódica (F).

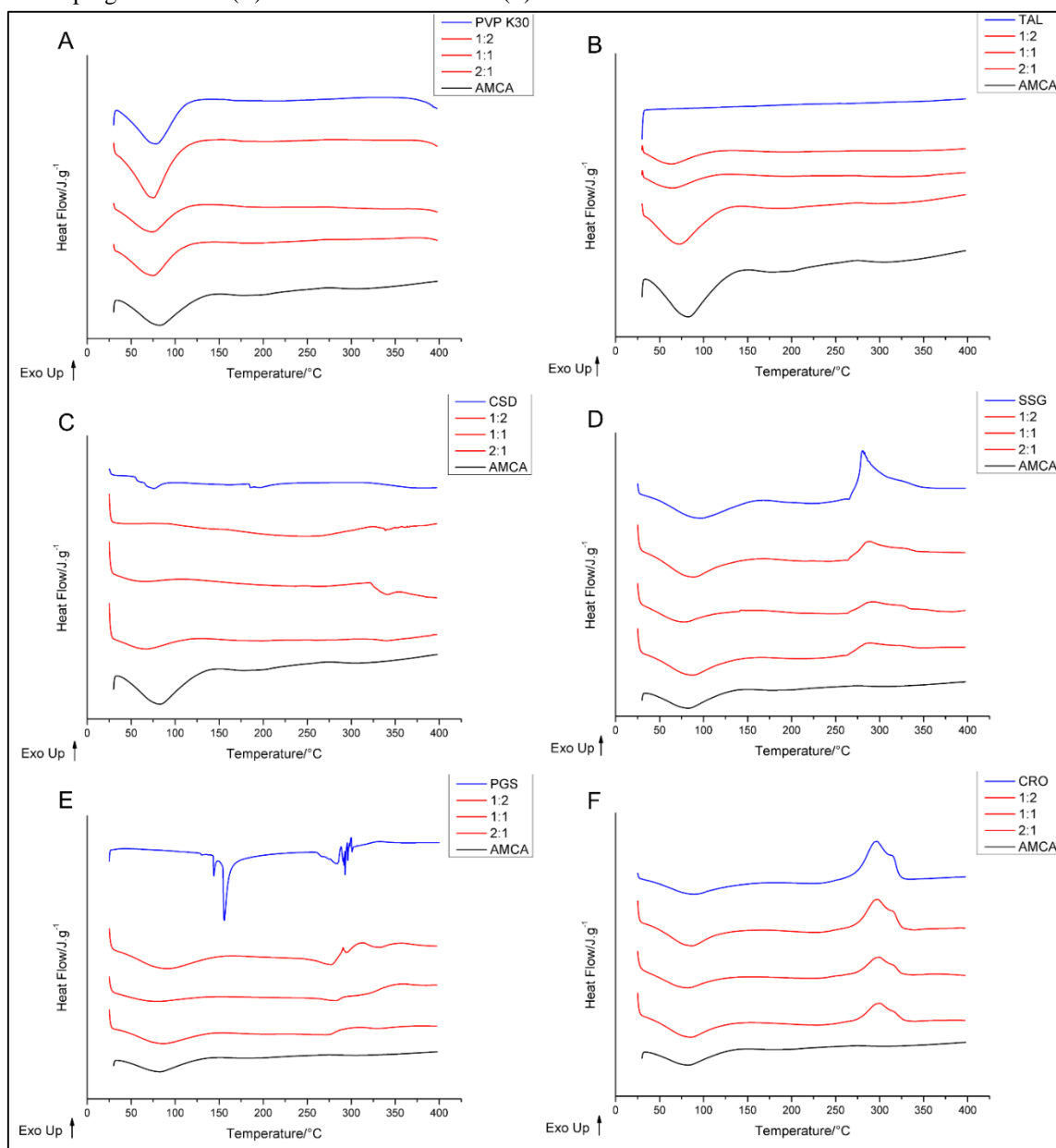


Figura 03 – Perfis de TG do extrato nebulizado AMCA (A) e misturas binárias com excipientes farmacêuticos: amido de milho (B), lactose (C), celulose microcristalina 101 (D) e 102 (E) e estearato de magnésio (F)

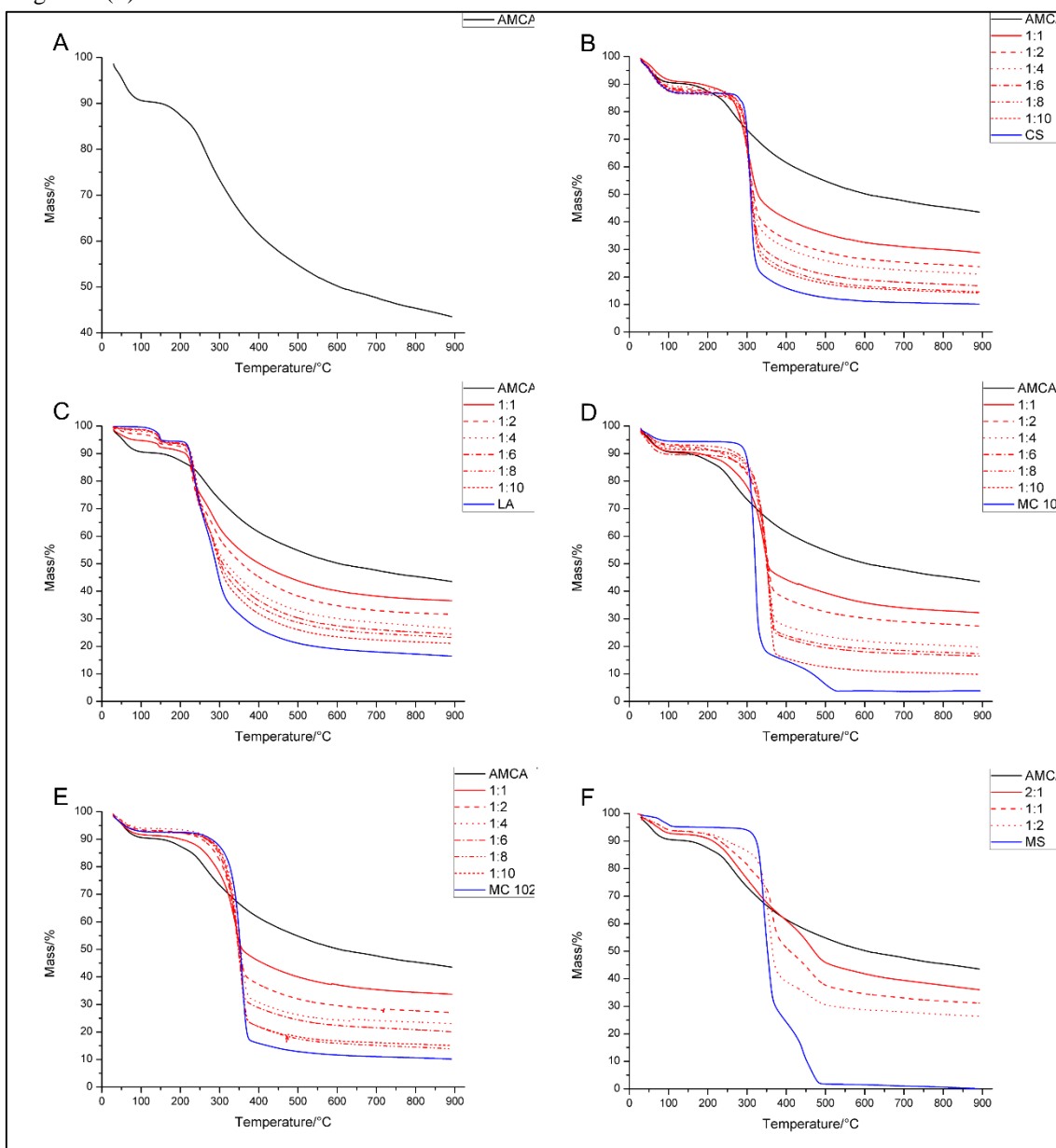
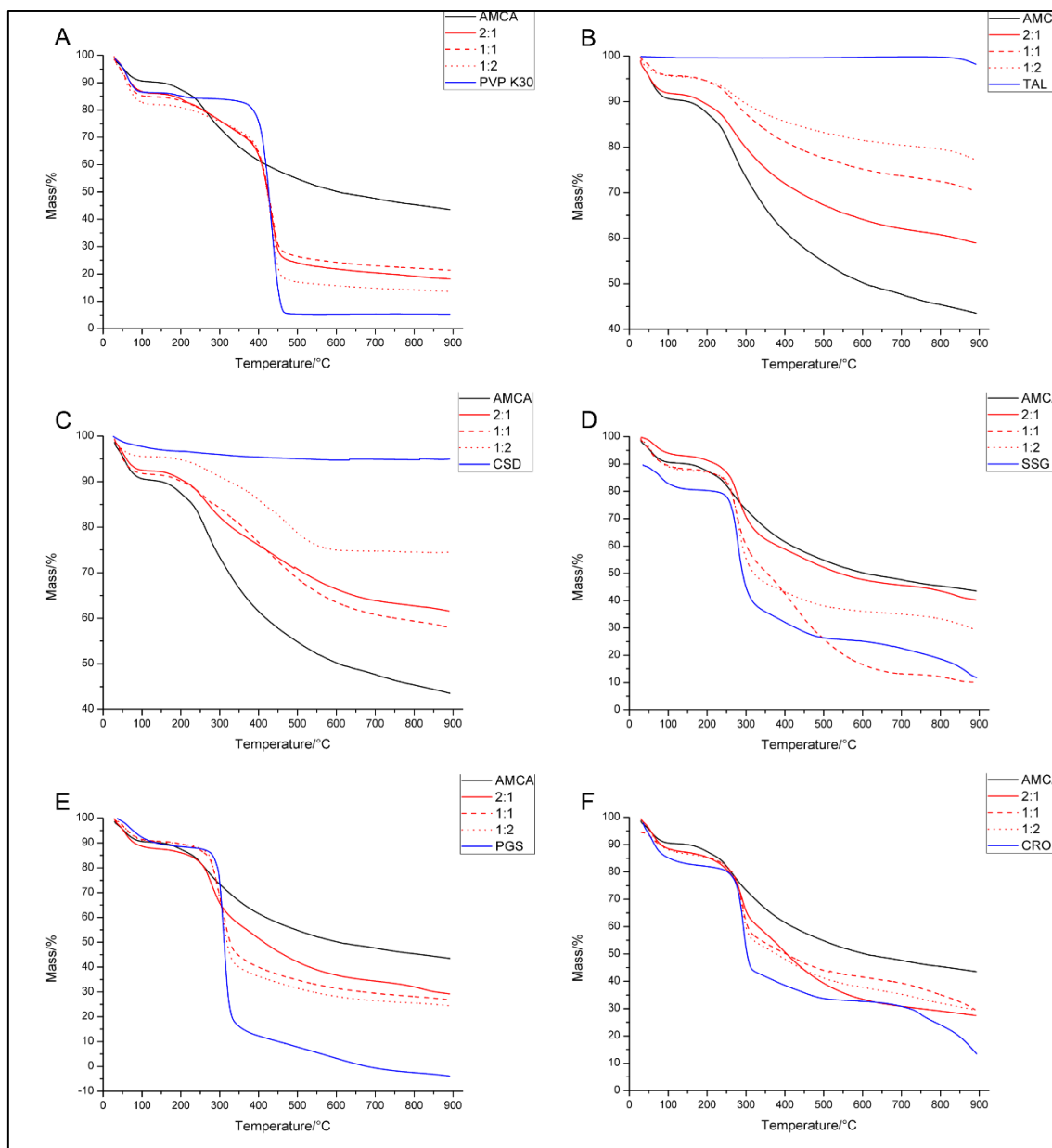


Figura 04 – Perfis de TG das misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos: PVP K30 (A), talco (B), dióxido de silício coloidal (C), amidoglicolato de sódio (D), amido pregelatinizado (E) e croscarmelose sódica (F).



A análise por DSC das misturas binárias entre o extrato e amido (Figura 1B) demonstra que a mistura assume as características do excipiente. Com o aumento da concentração do amido no estudo, o mesmo evento se move a partir de 201,07 °C para as temperaturas de 170,21, 176,21, 140,99, 143,92 e 211,49 °C, respectivamente, para as misturas 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 e 1:10. Neste caso, ocorreram variações nos picos de calor, dentro de uma gama bastante ampla: entre 62,84 e 148,20 J g⁻¹. Outros processos característicos do amido também são apresentados pelas misturas, mas dentro de uma

faixa de variação mais estreita do que o evento descrito acima. Nos perfis de DSC, há eventos relacionados com o extrato que são apresentados em todas as curvas. Isto sugere incompatibilidade entre o extrato e o excipiente nas proporções testadas.

Na Figura 3B, observou-se que as misturas binárias com amido não mostraram nenhuma mudança no perfil inicial de perda de massa do extrato. Em todas as curvas, é possível identificar o processo de desidratação do amido, até cerca de 100,00 °C, e após, a etapa principal de perda de massa, entre 256,06 e 338,91 °C, também característica do excipiente, seguido por um passo lento de perda de massa pelo extrato, que se estende até a extremidade da curva. As porcentagens de massa perdida nesta fase (40,00 a 60,00%) são consistentes com as quantidades de amido presentes nas amostras.

As misturas binárias produzidas com lactose (Figura 1C) expressaram predominantemente as características do excipiente. Os eventos típicos de desidratação (147,84 °C), fusão (217,47 °C) e de decomposição (245,74 °C) são expressos pelas misturas binárias de lactose, na mesma faixa de temperatura. Este perfil caracteriza a supressão das características do extrato, mostrando incompatibilidade entre estes componentes. Uma vez que não existe qualquer aparecimento de picos em diferentes faixas de temperatura é possível inferir que esta interação não é química (Desai, Shaikh e Dharwadkar, 2003). Devido à função de aglutinante da lactose, o efeito observado pode indicar que este componente pode prejudicar a liberação do extrato em meio biológico, causando efeitos indesejáveis para a funcionalidade da formulação.

A Figura 3C mostra alterações nas propriedades do extrato, sendo predominantemente observados eventos do excipiente. Entre as misturas 1:2 e 1:10, é visível a supressão da primeira etapa de perda de massa do extrato, onde é mais intensa a fase de desidratação da lactose, que ocorre entre 129,01 e 152,22 °C. Um passo importante na decomposição do extrato, que ocorre entre 218,13 e 318,66 °C, é suprimido na primeira mistura, em que nota-se apenas os passos de degradação do excipiente, que ocorre em duas etapas (a primeira entre 211,62 e 252,32 °C e a segunda a cerca de 252,32 °C). Estes dados confirmam a incompatibilidade termogravimétrica, inferida por dados de DSC, devido a distorção do perfil normal de degradação do extrato. Interações entre outros IFA e lactose e são frequentemente relatados na literatura (Verma e Garg, 2004; Oliveira, Ferraz e Matos, 2005; Cides et al., 2006).

A MC 101 (Figura 1D) não apresentou indícios de interação com o extrato AMCA. Nos perfis térmicos das misturas, observou-se que estas mantiveram as

características do extrato, ao mesmo tempo que também expressaram o pico endotérmico do excipiente. Para estas misturas, tanto o primeiro (entre 68,00 e 75,00 °C), quanto o segundo pico endotérmico (cerca de 357,00 °C) do excipiente são expressos à mesma temperatura, sem qualquer alteração significativa na faixa de temperatura de início do evento.

Figura 3D mostra que não houve nenhuma alteração na perda de umidade, na primeira fase, do extrato ou do excipiente. Foi detectada nas misturas, que a principal fase de perda de massa da celulose tem seu início no intervalo de temperatura a partir de 252,37 °C, sendo apenas ligeiramente deslocada para temperaturas mais elevadas, se estendendo até 372,79 °C. Tanto o percentual de perda de massa nesta etapa, como o resíduo da amostra (variando entre 40,00 e 70,00%) são consistentes com a quantidade de excipiente contida.

Na MC 102 e suas misturas (Figura 1E) o primeiro pico, característico de perda de umidade, foi expresso em temperatura entre 62,00 - 74,00 °C, enquanto que o segundo, que corresponde ao início da decomposição da amostra, foi expresso entre 352,00 e 360,00 °C, sem qualquer alteração significativa na temperatura de início dos eventos. Em ambos os casos, MC 101 e 102, os perfis mostraram compatibilidade desejável, indicando que a combinação do extrato com estes componentes não modifica as suas características. Portanto, estes diluentes podem desempenhar uma função essencial na formulação sólida.

As curvas termogravimétricas obtidas para as misturas com celulose microcristalina 102 (Figura 3E) mostrou características de ambos os componentes. A mistura 1:1 expressa uma perda de massa característica do extrato na faixa de temperatura entre 30,00 e 126,49 °C. Observou-se que a decomposição das amostras começou a ser registrada perto da faixa de 169,53 a 241,27 °C, resultando numa perda de massa de 40,00 a 60,00%. À medida que a concentração do excipiente na mistura foi aumentada, um maior percentual da amostra foi degradado na faixa de decomposição da celulose, entre 238,40 e 388,57 °C. O percentual de resíduo a 900,00 °C variou entre 33,71 e 15,10%, os quais correspondem as misturas produzidas entre 1:1 e 1:10. Uma vez que mudanças significativas não foram detectadas nos intervalos de temperatura dos eventos de ambos os componentes, pode-se reafirmar a compatibilidade térmica entre o extrato e a celulose microcristalina 102, de forma a não comprometer a estabilidade térmica destes componentes, quando combinados.

A análise das misturas produzidas com estearato de magnésio (Figura 1F) mostraram que nas proporções de 1:1 e 1:2, o excipiente influencia as características do extrato, enquanto na proporção de 2:1, a intensidade desta interação é reduzida. Este excipiente está amplamente relacionado a casos de incompatibilidade (Oliveira, Ferraz e Matos, 2005; Tita et al., 2011), com várias substâncias. No entanto, em formulações sólidas, este excipiente é utilizado a baixas concentrações, fazendo com que a interação ocorra, mas em uma grandeza negligenciável. Provavelmente, os produtos da interação, nesta relação de componentes, não são capazes de causar uma mudança significativa no perfil do extrato.

Os dados termogravimétricos das misturas de estearato de magnésio (Figura 3F) mostraram comportamentos diferentes de acordo com a variação na proporção dos seus componentes. Na mistura 1:1, foi possível visualizar os eventos característicos de ambos os componentes. A primeira perda de massa do extrato e do excipiente ocorreu entre 30,00 e 104,49 °C. Na mistura 1:2, observa-se uma perda de massa que começa à temperatura de 157,09 °C, provavelmente devido a um evento do extrato, uma vez que o excipiente é estável à mesma temperatura. A mistura 2:1 mostrou em seu perfil eventos característicos do extrato com as mesmas temperaturas de perda de massa deste evento. A partir destes dados, pode-se reafirmar que a interação do extrato com ME ocorre em função da concentração do excipiente na formulação. Por conseguinte, uma vez que este excipiente é utilizado em baixas concentrações, a interação pode ser reduzida a níveis insignificantes, sem perda da sua função.

O excipiente de PVP K-30 (Figura 2A) mostrou indícios de compatibilidade térmica com o extrato, uma vez que não foram detectadas alterações no perfil térmico, exceto uma ligeira antecipação do evento de perda de umidade a partir da mistura, que agora ocorre em cerca de 75,00 °C.

Na figura 4A, não se observaram alterações nos eventos de maneira a sugerir comprometimento da estabilidade extrato. A perda de massa na faixa de temperatura entre 389,22 e 460,20 °C, característica da degradação do excipiente, não foi alterada, nem a perda de água. Os percentuais de perda de massa e de resíduo (13,52 e 21,34%) são consistentes com a proporção dos componentes nas misturas. A conservação da estabilidade extrato e o seu perfil de degradação confirmam a compatibilidade entre PVP K-30 e o extrato, indicando que este é um aglutinante que possivelmente pode ser utilizado na formulação sólida.

Não foram observadas possíveis incompatibilidades nas misturas binárias produzidas com o extrato e talco (Figura 2B). Na figura 4B as misturas com talco também mostraram perda de massa em faixas de temperatura relacionadas a eventos do extrato (30,00 a 110,65 °C) e o início da fase principal de perda de massa a cerca de 138,92 °C. Mudanças não foram detectadas em qualquer evento. A proporção de resíduos também foi proporcional à concentração dos componentes (entre 58,96 e 77,13% para 2:1 e 1:2). A não-detecção de distorções nos perfis de degradação confirmam a compatibilidade entre o talco e o extrato AMCA.

A ausência de alterações no perfil térmico do extrato, quando foi incluído em misturas binárias com CSD (Figura 2C) é uma evidência de compatibilidade do extrato com este excipiente. Em todas as proporções estudadas, uma ocorrência endotérmica característica do extrato é identificável a temperaturas compreendidas entre 30,00 e 120,00 °C. Da mesma forma, as curvas TG das misturas binárias (Figura 4C) mostrou nos seus perfis de todos os eventos característicos do extrato, sem perda de estabilidade desse componente.

Os perfis de DSC das misturas binárias com amidoglicolato de sódio (Figura 2D) mostrou eventos característicos de ambos os componentes. Nestes perfis, é possível identificar o evento endotérmico de perda de umidade pelos dois componentes (ambos amorfos), a temperaturas entre 30,00 e 164,00 °C, e a decomposição térmica do excipiente, um evento exotérmico entre 263,36 e 364,24 °C. Os eventos também são mostrados nas curvas TG (Figura 4D), em que é possível perceber que os eventos de decomposição ocorrem nos mesmos intervalos de temperatura, com apenas diferenças na perda de massa em cada evento, devido às diferentes proporções das amostras. No entanto, o perfil térmico da mistura a 1:1 apresentou um evento de decomposição entre 333,16 e 634,70 °C, com maior perda de massa para a amostra (38,26%). A este evento provavelmente é atribuída uma antecipação da decomposição do extrato, uma vez que o resíduo final da amostra é de 10,09%, quando as misturas 1:2 e 2:1 apresentou resíduos de 29,32 e 40,27%, respectivamente. O comportamento inesperado da mistura 1:1 forneceu evidências de incompatibilidade entre o extrato e amidoglicolato de sódio.

Na figura 2E, os perfis de DSC das misturas binárias com amido pré-gelatinizado mostraram a supressão dos eventos térmicos entre 141,54 e 177,68 °C, característica do começo da decomposição excipiente. Este evento não é observado em qualquer mistura estudada. Nas curvas TG das misturas (Figura 4E), não há sinais de

perda de estabilidade dos componentes. A incompatibilidade com este excipiente é relatada em alguns estudos (Ibrahim e El-Setouhy, 2010; Bharate, Bharate e Bajaj, 2010), mas a origem da incompatibilidade é incerta e provavelmente relacionada com a natureza glicosídica do excipiente envolvido na mistura binária.

As curvas de DSC das misturas binárias com croscarmelose sódica (Figura 2F) mostrou eventos característicos do extrato (perda de umidade entre 30,00 e 148,63 °C) e do excipiente (decomposição térmica a 229,61 – 340,08 °C), sem deslocamento nos intervalos característicos de temperatura. Nas curvas TG (Figura 4F), é mostrado que os eventos de decomposição das amostras ocorreram nos mesmos intervalos de temperatura (182,85 a 328,43 °C e 316,14 a 619,58 °C), correspondentes a decomposição do excipiente e do extrato, respectivamente, não indicando perda de estabilidade destes componentes.

Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

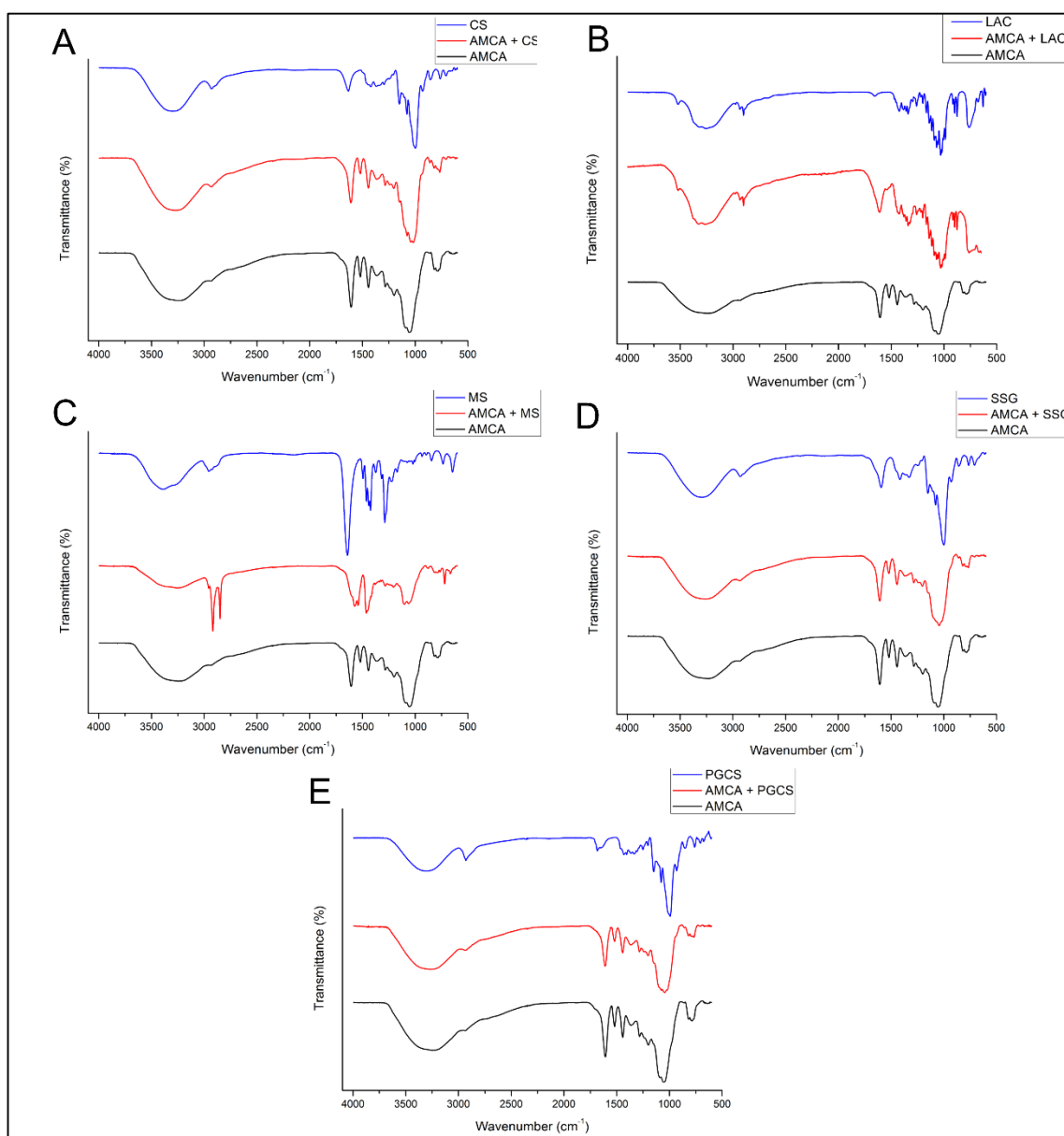
No espectro de FTIR referente ao extrato nebulizado, uma banda larga é apresentada entre 3800 e 3000 cm^{-1} , o qual é indicativo de grupos hidroxila (estiramento OH) (Skoog, Holler e Nieman, 1998); esses grupos são atribuídos tanto a moléculas hidroxiladas do extrato (tais como polifenóis) quanto ao seu conteúdo de umidade, devido à sua natureza amorfa e higroscópica. Os picos na faixa de 2974 a 2847 cm^{-1} , típicos de ligações carbono-hidrogênio (Skoog, Holler e Nieman, 1998), são atribuídos à natureza dos compostos orgânicos contidos no extrato.

Os picos agudos na região 1702 - 1685 cm^{-1} relacionam-se a ligações carbono-oxigênio (C=O) (Silverstein, Webster e Kiemle, 2006), conforme indicadas em éteres, ésteres e ácidos carboxílicos, e são indicativos de uma variedade de metabólitos, tais como taninos, flavonoides, antraquinonas, entre outros (Júnior et al., 2006). Nesta região também são indicados picos entre 1307 e 1025 cm^{-1} (carbonila), 1607 e 1516 cm^{-1} (ligações C=C em anéis aromáticos), e 788 e 674 cm^{-1} (ligações CH em aromáticos substituídos) (Silverstein, Webster e Kiemle, 2006).

O espectro da mistura binária com amido de milho (Figura 5A) não mostrou alterações no perfil do extrato nebulizado; as bandas de extrato acima descritos foram expressos no espectro, com sobreposição daqueles relacionados ao excipiente, sugerindo que não há evidências de interações entre os grupos funcionais destes

componentes. Foram observados perfis semelhantes para as misturas com glicolato de amido sódico (Figura 5D) e amido pré-gelatinizado (Figura 5E).

Figura 05 – Espectros FTIR relativos às misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos: amido de milho (A), lactose (B), estearato de magnésio (C), amidoglicolato de sódio (D) e amido pregelatinizado (E).



A mistura com lactose mostrou, no seu espectro de FTIR (Figura 5B), bandas de absorção características predominantemente do excipiente, tal como nas regiões de 3600 - 2700 cm^{-1} e 1500 - 800 cm^{-1} . Bandas características do extrato, a 1702 - 1685 cm^{-1} são expressas no espectro da mistura, indicando conservação dos grupos carbonila,

presentes em muitos compostos do extrato. No entanto, a formação de uma forte banda de absorção na região abaixo de 800 cm^{-1} é indicativo de interação química entre estes componentes, o que sugere incompatibilidade.

O espectro de FTIR da mistura binária com estearato de magnésio é apresentado na figura 5C. Na região de $3000 - 2700\text{ cm}^{-1}$, dois picos agudos são apresentados, que são sugestivos de uma forte formação de grupos CH terminais (os picos podem ser devidos às suas deformações axiais angulares). Nota-se também a supressão do pico relacionado ao grupo carbonila, na região de $1702 - 1685\text{ cm}^{-1}$. Estas alterações são indicativos de interações químicas entre os compostos do extrato e o estearato de magnésio, o que permite classificar esta mistura como incompatível.

Difração de raios-X de pó (XRPD)

A fim de ser possível estudar a cristalinidade do extrato, as amostras suspeitas de incompatibilidade foram selecionadas para análise por difração de raios-X (XRPD). As misturas binárias na proporção de 1:1 (m/m) foram utilizadas para análise, com objetivo de não provocar desvios sobre os perfis de difração por quantidade de componentes. O perfil de difração do extrato nebulizado mostrou-se predominantemente amorfo, com três regiões cristalinas. Isto é provavelmente devido ao grande número de compostos presentes no fitocomplexo, o que é esperado para extratos vegetais. As regiões cristalinas são atribuídas aos carboidratos presentes no extrato, que podem ter se cristalizado durante o processo de secagem.

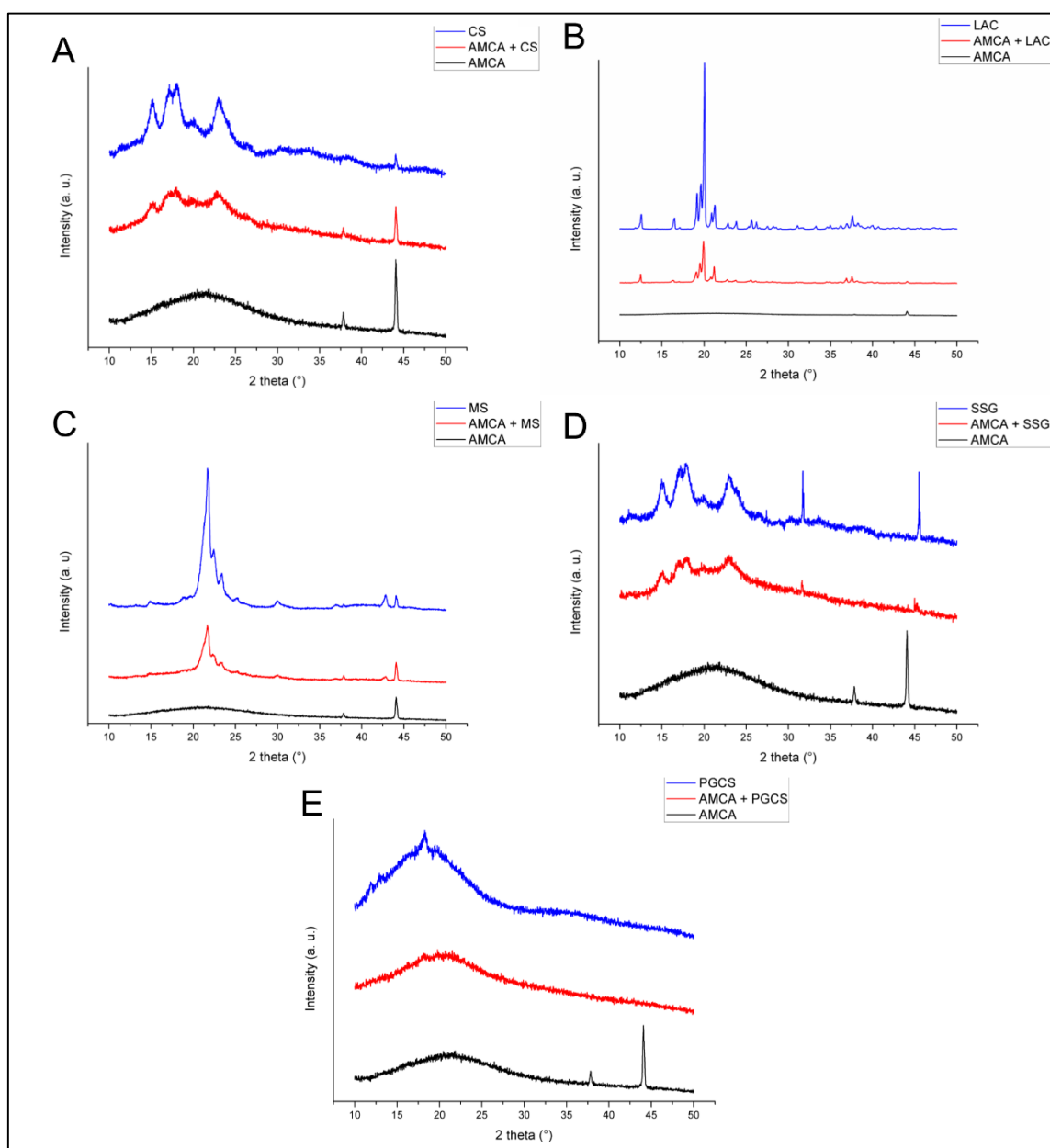
Em combinação com amido de milho (Figura 6A), o perfil amorfo do amido é expresso no início da curva, com a expressão das regiões cristalinas do extrato em ângulos superiores a $37,50^\circ$. A manutenção das estruturas de ambos componentes da mistura é evidência de que a interação entre o amido e extrato, detectados nos perfis térmicos não são de natureza física.

Lactose (Figura 6B), sendo um dissacarídeo, tem um perfil mais forte de cristalinidade, que é expresso principalmente no difratograma da mistura. No entanto, um pico cristalino característico do extrato, acima de $42,50^\circ$ é expresso na mistura, o que indica a conservação da estrutura extrato na presença deste excipiente.

Nas misturas com estearato de magnésio (figura 6C), os perfis indicam certa amorfização da amostra, provavelmente devido à fase amorfa do extrato, mas também a

conservação das estruturas cristalinas do excipiente e de extrato, que podem ser notadas a partir da expressão dos picos cristalinos em 37,50 e 42,50°.

Figura 06 – Perfis de DRX relativos às misturas binárias do extrato nebulizado AMCA com excipientes farmacêuticos: amido de milho (A), lactose (B), estearato de magnésio (C), amidoglicolato de sódio (D) e amido pregelatinizado (E).



O amidoglicolato de sódio (Figura 6D) apresentou um perfil cristalográfico com várias regiões de cristalinidade e amorficidade. Estas regiões são expressas no perfil da mistura, mas as características do extrato são suprimidas nesta amostra, indicando uma

evidência de interação entre esses componentes em estado sólido, o que seria indicativo de incompatibilidade.

O perfil difratográfico da mistura com amido pré-gelatinizado (Figura 6E) mostrou um perfil completamente amorfo, com a supressão da fase cristalina do extrato, o que indica interação física entre estes componentes.

CONCLUSÃO

O uso de técnicas de análise instrumental é uma ferramenta valiosa para a indústria farmacêutica. Com alguns desses métodos, foi possível indicar os excipientes que podem tornar possível uma formulação sólida do extrato nebulizado de *Ximenia americana* L., delineando uma forma farmacêutica para esta planta, cujas atividades farmacológicas têm sido conhecidas por pessoas de diferentes regiões do mundo, e comprovadas em diversos estudos.

Os resultados mostraram que a lactose, amido e estearato de magnésio mostraram incompatibilidade com o extrato, causando alterações consideráveis no perfil de difração e nas propriedades térmicas, com a supressão das características do extrato. Provavelmente, a inclusão destes excipientes na formulação alteraria as características de bioequivalência e biodisponibilidade do extrato, o que é o critério para a eliminação deste excipiente na formulação.

Este estudo demonstrou a importância do uso de técnicas instrumentais para as fases iniciais do desenvolvimento do medicamento fitoterápico, e na seleção de excipientes que podem otimizar a atividade do medicamento desenvolvido com extrato de *Ximenia americana* L.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a PROPESQ/UEPB pelo apoio financeiro desta pesquisa. E ao CERTBIO/UEPB pelas análises.

Tabela 01 - Continuação

Excipiente	Mistura binária	Pico 1			Pico 2			Pico 3			Pico 4		
		Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J/g)	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J/g)	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J/g)	Início - Final (°C)	Pico (°C)	ΔH (J/g)
TAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:1	32,67 – 128,38	68,80	69,55	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	1:2	33,28 – 131,58	64,59	68,03	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2:1	35,69 – 140,81	74,16	201,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CSD	-	50,67 – 100,44	73,94	30,37	183,38 – 249,26	196,54	17,93	313,71 – 400,00	354,03	11,92	-	-	-
	1:1	29,82 – 100,91	54,37	31,00	322,72 – 351,63	332,81	16,01	-	-	-	-	-	-
	1:2	329,98 – 400,00	338,78	20,60	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2:1	30,29 – 121,76	67,04	81,57	324,14 – 400,00	346,35	18,66	-	-	-	-	-	-
PGS	-	141,54 – 149,24	143,73	13,29	149,24 – 177,68	155,75	148,50	260,62 – 288,46	284,26	90,05	-	-	-
	1:1	31,24 – 144,51	72,53	168,10	243,09 – 295,70	282,67	32,53	-	-	-	-	-	-
	1:2	29,82 – 160,15	85,83	443,70	245,46 – 290,96	278,46	105,70	290,96 – 311,82	295,98	24,18	311,82 – 357,32	331,56	37,68
	2:1	29,34 – 147,83	82,89	318,70	241,67 – 311,82	276,77	39,04	311,82 – 372,01	331,82	19,64	-	-	-
SSG	-	27,86 – 164,61	91,94	458,00	265,49 – 364,24	280,64	408,20	-	-	-	-	-	-
	1:1	29,28 – 141,17	73,09	258,50	262,65 – 341,50	289,81	130,50	-	-	-	-	-	-
	1:2	30,70 – 164,97	84,68	419,00	263,36 – 346,12	285,87	179,37	-	-	-	-	-	-
	2:1	30,70 – 160,71	85,31	367,80	263,36 – 346,12	284,21	117,50	-	-	-	-	-	-
CRO	-	27,86 – 164,26	85,70	316,60	230,33 – 332,98	295,60	535,50	-	-	-	-	-	-
	1:1	31,77 – 145,08	77,18	271,20	229,61 – 336,53	298,46	266,80	-	-	-	-	-	-
	1:2	29,99 – 156,44	82,92	370,60	230,33 – 339,73	297,42	435,60	-	-	-	-	-	-
	2:1	31,41 – 148,63	81,90	339,80	233,17 – 340,08	298,74	269,50	-	-	-	-	-	-

Tabela 02 – Dados de TG do extrato nebulizado de *X. americana* e suas misturas binárias com excipientes farmacêuticos

Excipiente	Mistura binária	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Resíduo (%)
		Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	
AMCA	-	30,00 – 97,78	7,91	148,82 – 623,36	40,57	-	-	43,52
CS	-	30,00 – 100,00	12,15	277,72 – 322,26	64,41	-	-	10,10
	1:1	30,00 – 93,37	8,36	256,06 – 332,64	41,76	-	-	28,75
	1:2	30,00 – 90,27	10,90	267,99 – 338,91	48,52	-	-	23,69
	1:4	30,00 – 88,28	9,82	265,15 – 332,10	51,31	-	-	21,01
	1:6	30,00 – 93,76	10,97	274,33 – 336,55	56,34	-	-	16,76
	1:8	30,00 – 84,65	10,18	276,34 – 334,99	57,33	-	-	14,55
	1:10	30,00 – 94,65	10,91	269,99 – 332,64	58,96	-	-	14,14
LA	-	129,01 – 152,22	5,09	218,13 – 318,66	65,08	-	-	16,42
	1:1	30,00 – 146,97	6,47	214,63 – 242,09	17,92	242,09 – 900,00	41,51	36,59
	1:2	30,00 – 146,94	6,13	211,62 – 240,20	17,39	240,20 – 900,00	42,80	31,66
	1:4	30,00 – 147,85	5,12	219,57 – 251,53	28,24	251,53 – 900,00	43,44	26,44
	1:6	30,00 – 147,36	5,33	218,11 – 250,49	29,76	250,49 – 900,00	46,25	24,41
	1:8	30,00 – 148,00	5,04	217,76 – 250,81	29,74	250,81 – 900,00	49,45	23,18
	1:10	30,00 – 147,94	5,50	221,48 – 252,32	31,62	252,32 – 900,00	50,10	21,07

Tabela 02 - Continuação

Excipiente	Mistura binária	Etapa 1		Etapa 2		Etapa 3		Resíduo (%)
		Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	Início - Final (°C)	Perda de massa (%)	
MC 101	-	30,00 – 80,65	4,52	288,28 – 338,26	73,89	429,17 – 520,57	9,217	3,851
	1:1	30,00 – 77,60	7,72	252,37 – 353,78	41,26	-	-	32,25
	1:2	30,00 – 78,56	5,97	290,11 – 365,75	51,29	-	-	27,37
	1:4	30,00 – 73,55	6,78	302,37 – 369,19	61,12	-	-	19,71
	1:6	30,00 – 69,58	8,38	296,16 – 367,82	63,32	-	-	16,41
	1:8	30,00 – 73,20	5,82	297,22 – 372,79	66,85	-	-	17,22
MC 102	1:10	30,00 – 69,99	6,13	296,83 – 369,43	72,12	-	-	9,82
	-	30,00 – 94,92	5,87	238,4 – 388,57	75,73	-	-	10,15
	1:1	30,00 – 126,49	7,34	169,53 – 361,79	41,41	-	-	33,71
	1:2	30,00 – 113,09	5,77	121,7 – 370,39	53,46	-	-	27,05
	1:4	30,00 – 95,88	4,72	228,83 – 374,22	59,99	-	-	23,00
	1:6	30,00 – 95,88	4,96	228,83 – 372,31	61,22	-	-	20,08
MS	1:8	30,00 – 87,27	5,08	241,27 – 377,09	67,98	-	-	13,86
	1:10	30,00 – 88,23	5,42	231,70 – 370,39	67,67	-	-	15,10
	-	30,00 – 108,31	4,11	281,44 – 366,57	62,80	366,57 – 500,48	30,52	0,11
	1:1	30,00 – 104,49	5,66	179,09 – 382,83	38,70	382,83 – 491,87	15,98	31,12
	1:2	30,00 – 102,57	5,08	157,09 – 379,00	51,52	379,00 – 512,91	11,71	26,36
	2:1	30,00 – 108,31	6,18	147,53 – 391,44	30,04	391,44 – 508,13	16,92	36,02
PVP K-30	-	30,00 – 81,28	12,43	389,22 – 460,20	76,01	-	-	5,29
	1:1	30,00 – 87,79	12,44	165,54 – 388,77	17,26	388,77 – 452,80	37,82	21,34
	1:2	30,00 – 83,02	13,94	179,92 – 389,40	13,71	389,40 – 454,48	47,62	13,52
TAL	2:1	30,00 – 83,54	11,90	151,27 – 391,20	20,28	391,20 – 452,69	38,34	18,13
	-	744,39 – 890,73	1,615	-	-	-	-	98,21
	1:1	30,00 – 110,65	4,03	143,33 – 384,49	13,67	-	-	70,34
CSD	1:2	30,00 – 109,27	3,23	146,57 – 373,47	8,902	-	-	77,13
	2:1	30,00 – 100,66	6,58	138,92 – 411,52	20,28	-	-	58,96
	-	30,00 – 585,55	5,26	-	-	-	-	94,92
PGS	1:1	30,00 – 98,72	7,30	162,06 – 716,94	31,25	-	-	57,89
	1:2	30,00 – 94,00	3,32	168,68 – 319,92	5,029	319,92 – 596,78	15,27	74,51
	2:1	30,00 – 102,51	6,82	152,61 – 355,84	13,66	355,84 – 728,29	14,95	61,61
SSG	-	30,00 – 136,54	9,87	263,20 – 374,75	73,35	374,75 – 690,48	14,15	0,82
	1:1	30,00 – 110,07	8,36	230,12 – 385,15	47,41	-	-	26,82
	1:2	30,00 – 119,52	9,21	238,63 – 368,13	50,15	-	-	24,39
CRO	2:1	30,00 – 119,52	11,14	208,38 – 346,39	27,94	346,39 – 645,10	22,29	29,25
	-	30,00 – 128,97	8,37	230,12 – 328,43	41,71	328,43 – 484,40	11,16	11,79
	1:1	30,00 – 118,57	10,42	215,94 – 333,16	33,41	333,16 – 634,70	38,26	10,09
CRO	1:2	30,00 – 127,08	11,38	215,94 – 328,43	37,74	328,43 – 547,74	11,73	29,32
	2:1	30,00 – 116,68	6,37	181,91 – 341,66	28,79	341,66 – 616,74	16,09	40,27
	-	30,00 – 132,75	14,39	231,06 – 328,43	38,17	328,43 – 495,75	9,306	13,40
CRO	1:1	30,00 – 121,41	6,78	182,85 – 322,76	29,71	322,76 – 558,14	14,09	29,61
	1:2	30,00 – 129,92	12,35	207,43 – 326,54	30,77	326,54 – 583,66	16,15	29,48
	2:1	30,00 – 118,57	11,53	182,85 – 316,14	24,14	316,14 – 619,58	29,31	27,44

REFERÊNCIAS

ARAGÃO, C. F. S.; SOUZA, F. S.; BARROS, A. C. S.; VERAS, J. W. E.; BARBOSA FILHO, J. M.; MACÊDO, R. O. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. **Braz. J. Pharmacog**, v. 12, p. 60-61, 2002.

ASRES, K.; BUCAR, F.; KARTING, T.; WITVROUW, M.; PANNECOUQUE, C.; CLERQ, E. Antiviral activity against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and HIV-2 of ethnobotanically selected Ethiopian medicinal plants. **Phytother. Res** v. 15, p. 62-69, 2001.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **J. Excip. Food Chem**, v. 1, p. 3-26, 2010.

BORCHARDT, R. T. Value of pharmaceutical sciences. **J. Pharm. and Biomed. Anal**, v. 16, p. 7387-1401, 1998.

BRASILEIRO, M. T.; EGITO, A. A.; LIMA, J. R.; RANDAU, K. P.; PEREIRA, G. C.; ROLIM NETO, P. J. *Ximenia americana* L.: botany, chemistry and pharmacology in the pharmaceutical technology interest. **Braz. J. Pharm**, v. 89, p. 164-167, 2008.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **J. Pharm. and Biomed. Anal**, v. 55, p. 618-644, 2011.

CIDES, L. C. S.; ARAÚJO, A. A. S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J. R. Thermal behaviour, compatibility study and decomposition kinetics of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 84, p. 441-445, 2006.

CORREIA, L. P.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, C. P.; SANTOS, A. F. O.; CAVALCANTE, H. M. M. O.; MACÊDO, R. O. Characterization of herbal medicine with different particle sizes using pyrolysis GC/MS, SEM and thermal techniques. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 111, n. 3, p. 1691-1698, 2013.

CORREIA, L. P.; SANTANA, C. P.; MEDEIROS, A. C. D.; MACÊDO, R. O. *Sideroxylon obtusifolium* herbal medicine characterization using pyrolysis GC/MS, SEM and different thermoanalytical techniques. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 123, n. 2, p. 993-1001, 2016.

COSTA, E. M. M. B.; BARBOSA, A. S.; ARRUDA, T. A.; OLIVEIRA, P. T.; DAMETTO, F. R.; CARVALHO, R. A.; MELO, M. D. In vitro antimicrobial activity of plant extracts against *Enterococcus faecalis*. **Braz. J. Med. Lab. Path**, v. 46, p. 175-180, 2010.

DESAI, S. R.; SHAIKH, M. M.; DHARWADKAR, S. R. Preformulation compatibility studies of etamsylate and fluconazole drugs with lactose by DSC. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 71, p. 651-658, 2003.

FERNANDES, F. H.; SANTANA, C. P.; SANTOS, R. L.; CORREIA, L. P.; CONCEIÇÃO, M. M.; MACÊDO, R. O.; MEDEIROS, A. C. D. Thermal characterization of dried extract of medicinal plant by DSC and analytical techniques. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 113, n. 2, p. 443-447, 2013.

FERNANDES, F. H. A.; DE ALMEIDA, V. E.; DE MEDEIROS, F. D.; DA SILVA, P. C. D.; SIMOES, M. O. D. S.; VERAS, G.; MEDEIROS, A. C. D. Evaluation of compatibility between *Schinopsis brasiliensis* Engler extract and pharmaceutical excipients using analytical techniques associated with chemometric tools. **J. Therm. Anal. Calorim.**, p. 1-12, 2016. DOI: 10.1007/s10973-016-5241-0

IBRAHIM, H. K.; EL-SETOUHY, D. A. Valsartan orodispersible tablets: formulation, in vitro/in vivo characterization. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, p. 189-196, 2010.

JAMES, D. B.; ABU, E. A.; WUROCHEKKE, A. U.; ORJI, G. N. Phytochemical and antimicrobial investigation of the aqueous and methanolic extracts of *Ximenia americana*. **J. Med. Sci**, v. 07, p. 284, 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. **Braz. J. Farmacogn**, v. 16, p. 671-677, 2006.

MAXIMIANO, F. P.; NOVACK, K. M.; BAHIA, M. T.; SÁ-BARRETO, L. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Polymorphic screen and drug–excipient compatibility studies of the antichagasic benzimidazole. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 106, p. 819-824, 2011.

MEDEIROS, A. C. D.; CERVANTES, N. A. B.; GOMES, A. P. B.; MACÊDO, R. O. Thermal stability of prednisone drug and tablets. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 64, p. 745-750, 2001.

MEDEIROS, A. C. D.; MEDEIROS, I. A.; MACÊDO, R. O. Thermal studies of *Albizia inopinata* crude extract in the presence of cyclodextrin and Aerosil® by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Therm. Acta**, v. 392, p. 93-98, 2002.

MEVY, J.; BESSIERE, J.; GREFF, S.; ZOMBRE, G.; VIANO, J. Biochem. Composition of the volatile oil from the leaves of *Ximenia americana* L. **Syst. Ecol**, v. 34, p. 549-553, 2006.

OGUNLEYE, D. S.; IBITOYE, S. F. Studies of antimicrobial activity and chemical constituents of *Ximenia americana*. **Trop. J. Pharm. Res**, v. 02, p. 239-241, 2003.

OLIVEIRA, A. H.; MOURA, E. A.; PINTO, M. F.; PROCÓPIO, J. V. V.; SOUZA, V. G.; SOUZA, F. S.; MACÊDO, R. O. Thermal characterization of raw material pentoxifylline using thermoanalytical techniques and Pyr-CG/MS. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 106, p. 763-766, 2011.

OLIVEIRA, G. G. G.; FERRAZ, H. G.; MATOS, J. S. R. Thermoanalytical study of glibenclamide and excipients. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 79, p. 267-270, 2005.

OLIVEIRA, O.W.; PETROVICK, P. R. Spray drying of plant extracts: basic remarks and application. **Braz. J. of Pharm**, v. 20, p. 641-650, 2010.

OMER, M. E. F. A.; ELNIMA, E. I. Antimicrobial activity of *Ximenia americana*. **Fitoter**, v. 74, p. 122-126, 2003.

PROCÓPIO, J. V. V.; SOUZA, V. G.; COSTA, R. A.; CORREIA, L. P.; SOUZA, F. S.; MACÊDO, R. O. Application of thermal analysis and pyrolysis coupled to CG/MS in the qualification of simvastatin pharmaceutical raw material. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 106, p. 665-670, 2011.

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

SANTOS, A. F. O.; BASÍLIO JÚNIOR, I. D.; SOUZA, F. S.; MEDEIROS, A. F. D.; PINTO, M. F.; SANTANA, D. P.; MACEDO, R. O. Application of thermal analysis of binary mixtures with metformin. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 93, p. 31-364, 2008.

SILVA, G. G.; SOUZA, P. A.; MORAIS, P. L. D.; SANTOS, E. C.; MOURA, R. D.; MENEZES, J. B. Wild plum fruit characterization (*Ximenia americana* L.) **Braz. J. Frut**, v. 30, p. 311-314, 2008.

SILVA, K. M. A.; CHAVES, T. P.; SANTOS, R. L.; BRANDAO, D. O.; FERNANDES, F. H. A.; JÚNIOR, F. J. D. L. R.; SANTOS, V. L.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D. Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus*

aureus by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Bolet. Latinoam. Caribe Pl.**, v. 14, n. 2, p. 92-98, 2015.

SILVA, M. S. P.; BRANDAO, D. O.; CHAVES, T. P.; FORMIGA FILHO, A. L.; COSTA, E. M. M. D. B.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid northeast: contribution to the control of oral microorganisms. **J. Evid. Based Complementary Altern. Med.**, v. 2012, 2012.

SILVA, P. C. D.; PORTELA, A. S.; LIMA, R. S. C.; SANTANA, C. P.; MEDEIROS, A. C. D.; SIMÕES, M. O S. Compatibility study between lipoic acid with polymers used in controlled drug release systems. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 123, n. 2, p. 965-971, 2016.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6th ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos; 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principles of Instrumental Analysis**. 5th ed. Philadelphia: Harcourt Brace & Company; 1998.

SORO, T. Y.; TRAORE, F.; SAKANDE, J. Analgesic activity of the aqueous extract from *Ximenia americana*. **CR Biologies**, v. 332, p. 371-377, 2009.

SOUZA, F. S.; BARRETO, A. P. G.; MACÊDO, R. O. Characterization of starch pharmaceuticals by DSC coupled to a photovisual system. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 64, p. 739-743, 2001.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **J. Pharm. and Biomed. Anal**, v.56, p. 221-227, 2011.

VERMA, R. K.; GARG, S. Compatibility studies between Isosorbide Mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal**, v. 35, p. 449-458, 2004.

ARTIGO 02

5. Desenvolvimento e padronização de uma formulação de comprimido de Ximenia americana L.

DESENVOLVIMENTO E PADRONIZAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO DE COMPRIMIDO DE *Ximenia americana* L.

Cleildo Pereira Santana¹, Francinalva Dantas de Medeiros¹, Lidiane Pinto Correia², Ana Cláudia Dantas de Medeiros^{1,2}

1 - Laboratório de Desenvolvimento e Ensaio em Medicamentos, Universidade Estadual da Paraíba, Rua Baraúnas, 351, Cidade Universitária, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil.

2 - Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba, Rua Baraúnas, 351, Cidade Universitária, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil.

RESUMO

Os medicamentos fitoterápicos representam atualmente uma parcela importante do mercado farmacêutico mundial, com crescente interesse das populações em seu uso. Entretanto, a produção destes medicamentos envolve uma complexa série de etapas, que determinam a viabilidade da produção e a qualidade do produto final. A *Ximenia americana* L. é uma planta de ocorrência em diversas regiões do mundo, com propriedades medicinais há muito conhecidas e aplicadas. Assim, este estudo teve como objetivo desenvolver e padronizar comprimidos produzidos com o extrato de *X. americana* L. O extrato foi seco por aspersão a partir de uma solução extrativa hidroetanólica, e padronizado em relação à sua composição fitoquímica. O marcador químico do extrato foi determinado e quantificado através de métodos cromatográficos validados. Estes indicaram a presença do ácido gálico, em uma concentração de 1,61 mg g⁻¹. As formulações propostas foram analisadas quanto às suas propriedades de fluxo e compactação. A melhor formulação foi escolhida para a obtenção de um lote de comprimidos, que foi avaliado quanto às suas características de qualidade e mostrou estar dentro das especificações farmacopéicas para peso médio, dureza, friabilidade e tempo de desintegração. Foi obtido o perfil de dissolução dos comprimidos produzidos, mostrando a liberação de cerca de 70% do conteúdo de extrato vegetal em 30 minutos. Os resultados obtidos apontam que foi possível obter comprimidos fitoterápicos contendo alto teor de extrato vegetal por compressão direta, desenvolvendo um processo rápido de formulação e produção, e garantindo as características de qualidade do produto final.

Palavras chave: *Ximenia americana* L., secagem por aspersão, marcador químico, HPLC, formulação, controle da qualidade, termogravimetria, estabilidade.

INTRODUÇÃO

Ximenia americana L. é uma planta encontrada na América do Sul, América Central, África, Índia e Nova Zelândia, cujas propriedades medicinais têm sido conhecidas e utilizadas pelas populações locais. Na região do semiárido brasileiro, a medicina tradicional indica esta planta, especialmente na forma de chá (decoção da casca ou infusão das folhas) e cataplasma das folhas, como um tratamento para a inflamações em geral, inflamação de órgãos internos, dores de dente, cólicas menstruais e como anti-séptico e antimicrobiano (Cartaxo, Souza e Albuquerque, 2010; Silva et al., 2012; Silva et al., 2015).

Extratos secos de plantas são utilizadas pela indústria farmacêutica, como insumos farmacêuticos ativos vegetais (IFAVs) para medicamentos à base de plantas, em diversas formas de dosagem. No entanto, para garantir as características de qualidade desses extratos, é necessário realizar a sua padronização. Este processo destina-se a permitir a análise qualitativa e quantitativa do extrato vegetal no medicamento acabado. Um método de padronização é a determinação qualitativa e quantitativa de uma ou mais substâncias no IFAV, as quais são chamadas de marcadores químicos. Informações sobre a presença e a quantidade destas substâncias no IFA serve para estabelecer importantes parâmetros de controle da qualidade de medicamentos fitoterápicos (Rasheed et al., 2012).

Comprimidos são formas farmacêuticas sólidas, obtidas através da agregação de pós através da aplicação de pressão. O método de compressão direta é considerado o mais eficiente para a produção de comprimidos, porque envolve menos etapas de processamento e, conseqüentemente, menor custo e tempo. Este método de produção é o mais apropriado para comprimidos que contenham extratos vegetais, uma vez que não envolve o uso de solventes ou aquecimento, processos que podem comprometer a integridade de diferentes fitoconstituintes (Gallo et al., 2013).

No entanto, este tipo de insumo farmacêutico ativo, em geral, tem características insatisfatórias de fluxo, compressibilidade e higroscopicidade (Gallo et al., 2013), sendo necessário um estudo adequado de adjuvantes farmacêuticos a serem utilizados, a fim de assegurar as propriedades farmacotécnicas adequadas da formulação para compressão.

Em relação às suas características, os comprimidos devem ter estabilidade física e química, desintegrar-se em tempo hábil, ser mecanicamente resistentes e desprovidos de defeitos, tais como falhas, rachaduras e contaminação. A avaliação da qualidade dos comprimidos é essencial para garantir a utilização do medicamento em condições que assegurem a segurança, a eficácia terapêutica e qualidade do produto durante todo o período de validade; portanto, deve levar em conta métodos físicos e químicos (Peixoto et al., 2005).

Assim, este trabalho teve como objetivo desenvolver e avaliar a qualidade dos comprimidos produzidos com o extrato nebulizado de *X. americana* L.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do extrato nebulizado de *X. americana* L.

A casca de *X. americana* foi coletado na região semiárida do estado da Paraíba (7°08'33,8" S; 36°06'21,1" W). O material vegetal recolhido foi seco numa estufa de ventilação forçada (FANEM 330), a uma temperatura constante de 40 °C, e pulverizada em moinho de facas com um tamanho de partícula de cerca de 10 mesh. Duzentos gramas da droga vegetal foram então submetidos à extração por maceração a frio em 1000 mL de solução hidroetanólica (70% v/v), por cinco dias.

O extrato foi nebulizado em *spray dryer* (LabMaq MSD 0.5), com temperatura de entrada de 120 °C e temperatura de saída entre 90 e 95 °C. No processo de secagem, Aerosil 200[®] foi usado na proporção de 20% (m/m) como adjuvante farmacêutico.

Determinação e quantificação do marcador químico da *X. americana* L.

O extrato nebulizado foi avaliado quanto à sua composição fitoquímica. As quantificações de polifenóis e flavonóides totais foram realizadas por espectrofotometria na região de UV-visível, seguindo os métodos descritos por Chaves et al. (2013), e a quantificação de taninos condensados, utilizando o método descrito por Makkar e Becker (1993). Os testes foram realizados usando um espectrofotômetro Shimadzu UVmini-1240.

A determinação do marcador químico do extrato nebulizado foi realizada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Dionex), acoplado a um detector de arranjo de diodos (DAD), com varredura na região do UV-Visível. A quantificação do marcador químico foi realizada utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) (Shimadzu) acoplado a um detector UV-Visível simples, monitorando o comprimento de onda de 270 nm.

Tanto na determinação quanto na quantificação, a coluna cromatográfica utilizada foi uma Gemini NX C18 (Phenomenex) (250 mm x 4,6 mm x 5 mm), a 30 ° C. A fase móvel foi constituída por uma mistura de ácido acético a 0,1% (v/v) (A) e metanol (B), em sistema de eluição, conforme a seguinte sequência: 0-3 minutos - 10% B isocrático; 3-10 minutos - gradiente até 12% B; 10-12 min - gradiente até 90% B; 12-17 minutos - 90% B isocrático; 17-20 minutos - 10% B isocrático. As amostras foram previamente dissolvidas numa solução de metanol (50% v/v) para análise.

A validação do método cromatográfico foi realizada pela avaliação dos parâmetros: especificidade, linearidade, repetibilidade, precisão intermediária, exatidão e limites de detecção e de quantificação (ICH, 2005).

Especificidade

A especificidade do método de separação foi avaliada nas análises HPLC-DAD. Foi avaliado se o método cromatográfico era capaz de separar os componentes do extrato sem a co-eluição de outras substâncias. A análise foi efetuada por comparação dos tempos de retenção dos picos cromatográficos do extrato com padrões cromatográficos (ácido caféico, ácido gálico, canferol, catequina, quercetina e rutina) (Sigma-Aldrich), e pela determinação da pureza do pico cromatográfico, comparando os espectros UV-Vis de 50 e 100% da altura do pico. A avaliação especificidade também levou em consideração a possível interferência de excipientes farmacêuticos no método de separação.

Linearidade

A linearidade do método foi analisada por adição de padrão, com a construção de curvas de calibração do extrato a uma concentração fixa (5,00 mg mL⁻¹), com a adição de concentrações crescentes do padrão cromatográfico (0, 2,50, 5,00, 10,00, 15,00, 25,00 e 30,00 µg mL⁻¹). Três curvas de calibração foram analisadas pela

avaliação de quatro parâmetros: coeficiente de determinação (R^2), análise de resíduos, teste de falta de ajuste e teste de significância de regressão, utilizando valores de F para 5% de significância.

Repetibilidade e precisão intermediária

A avaliação da repetibilidade foi realizada por meio da análise de soluções do extrato ($5,00 \text{ mg mL}^{-1}$) com adição de concentrações crescentes de padrão, em três níveis ($2,50$, $15,00$ e $25,00 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), na presença e na ausência da matriz de excipientes da formulação. Para a avaliação da precisão intermediária, estas amostras foram analisadas em três dias diferentes. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Exatidão

Esse parâmetro foi avaliado comparando-se as concentrações do marcador químico determinadas em soluções do extrato, em três níveis de concentração diferentes ($2,50$, $15,00$ e $25,00 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$), com seus valores de concentração real.

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados a partir do desvio padrão do ruído da linha de base do cromatograma, entre os tempos de $6,50$ e $7,50 \text{ min}$.

Desenvolvimento da formulação

No estudo anterior de pré-formulação, excipientes farmacêuticos foram selecionados para integrar a formulação de um comprimido, com base na sua compatibilidade com o extrato nebulizado (AMCA), que foi avaliada utilizando as seguintes técnicas analíticas: calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios-X de pó (XRPD). Os excipientes que não apresentaram incompatibilidade com o extrato foram: celulose microcristalina 102 (MC 102), como diluente; polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30), como aglutinante; talco (TAL), como lubrificante; dióxido de silício coloidal (CSD), como agente de deslizamento; e croscarmelose sódica (CRO), como agente de desintegração.

Determinação do ângulo de repouso

O ângulo de repouso estático foi determinado com base na altura fixa de um funil de vidro. Dez gramas do pó da formulação de comprimido foram passados através do funil, de modo a formar um cone sobre um papel milimetrado. A altura e diâmetro do cone foram medidos com um paquímetro digital.

A tangente do ângulo de repouso foi calculada pela razão $tga = H/R$, em que α é o ângulo de repouso, H é a altura e R é o raio do cone. Os resultados foram calculados pela média de cinco determinações. O tempo de fluxo foi medido em segundos, e também foi determinado pela média de cinco medições.

Determinação das densidades bruta e de compactação, fator de Hausner, índice de Carr e índice de densificação

Para a avaliação destes parâmetros, foram utilizadas amostras de 10 g da formulação (m). As amostras foram vertidas numa proveta, determinando-se o volume bruto (VB). A proveta foi em seguida submetida a 10, 500 e 1250 quedas sequenciais, determinando-se os volumes V_{10} , V_{500} e V_{1250} , respectivamente. O teste foi continuado em seqüências de 1250 quedas até que a diferença de entre duas leituras subsequentes fosse inferior ou igual a 0,1 mL, o que foi considerado como o volume de compressão (VC). O teste foi realizado em quintuplicata.

A partir dos dados obtidos neste teste, a densidade bruta (DB), densidade de compactação (DC), fator de Hausner (FH), índice de Carr (IC) e o índice de densificação (ID) foram calculados, de acordo com as seguintes relações:

$$\boxed{DB = \frac{m}{VB}} \quad \boxed{DC = \frac{m}{VC}} \quad \boxed{FH = \frac{DC}{DB}} \quad \boxed{IC = \frac{DC - DB}{DC} \times 100} \quad \boxed{ID = V_{10} - V_{500}}$$

Desenvolvimento e padronização dos comprimidos de *X. americana* L.

A realização do estudo de pré-formulação e dos ensaios descritos acima permitiu a escolha de uma formulação que foi comprimida por via direta, utilizando uma compressora de bancada (Lemaq Monopress LM-1). Um lote de 100 comprimidos com cerca de 300 mg foi obtido e caracterizado pelos seguintes ensaios:

Determinação do peso médio dos comprimidos

Trinta comprimidos foram pesados individualmente, e seu peso médio foi calculado, de acordo com as especificações da Farmacopéia Americana (2012).

Determinação dureza

A dureza dos comprimidos foi avaliada usando um durômetro digital 298 DGP (Nova Ética). O cálculo da dureza média foi baseado na análise de uma amostra de 10 comprimidos.

Avaliação da friabilidade

Para avaliar a friabilidade, foi utilizada uma amostra constituída por 20 comprimidos. Estes foram pesados e colocados em friabilômetro, operado a 25 rpm, com duração de teste de 4 minutos. Após o ensaio, os comprimidos foram novamente pesados, e a variação de peso foi calculada pela média de três determinações.

Determinação do tempo de desintegração

Para o teste de desintegração dos comprimidos, foi usado um desintegrador (Nova Ética). Seis comprimidos foram depositados em um cesto de seis tubos, e sobre cada um deles um disco de acrílico foi colocado. O cesto foi sequencialmente imerso em água purificada a 37 °C. Durante o teste, observou-se a integridade dos comprimidos, com o registro do tempo gasto para a completa desintegração. Os resultados foram calculados pela média do tempo de desintegração de cinco determinações.

Avaliação da uniformidade de conteúdo

Cinco comprimidos foram dissolvidos em uma solução de metanol a 50% (v/v), e o correspondente teor de marcador químico para o extrato foi determinado por HPLC, de acordo com a metodologia descrita na seção 2. Os resultados foram comparados com o teor esperado de extrato que estaria presente nos comprimidos, após um processo de produção ideal.

Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de *X. americana* L.

Desenvolvimento do método de quantificação

Para o estudo do perfil de dissolução dos comprimidos foi desenvolvido um método espectrofotométrico de quantificação na região do UV-Visível. Para tanto, foram analisadas soluções do extrato nebulizado dissolvido em solução tampão fosfato (pH = 6,8), sendo, esta solução, escolhida com base em testes de solubilidade do extrato e dos componentes da formulação. As varreduras espectrofotométricas foram realizadas em espectrofotômetro Lambda 950 (Perkin Elmer), entre os comprimentos de onda de 1100-190 nm.

O método de quantificação foi validado pela análise dos parâmetros: especificidade, linearidade, repetibilidade, precisão intermediária, exatidão, limites de detecção e de quantificação e robustez.

Especificidade

A especificidade do método de quantificação foi determinada pela análise da influência dos excipientes farmacêuticos da formulação sobre as bandas de absorção do extrato. Para isto, foram feitas leituras espectrofotométricas de soluções do extrato, da matriz de excipientes e da formulação do comprimido na região do UV-Visível, e avaliado, nessa última, a ocorrência de deslocamentos ou sobreposições de bandas.

Linearidade

A linearidade do método foi analisada pela construção de curvas de calibração do extrato em concentrações crescentes (50,00, 100,00, 125,00, 150,00, 175,00, 200,00 e 300,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Três curvas de calibração foram analisadas pela avaliação de quatro parâmetros: coeficiente de determinação (R^2), análise de resíduos, teste de falta de ajuste e teste de significância de regressão, utilizando valores de F para 5% de significância.

Repetibilidade e precisão intermediária

A avaliação da repetibilidade foi realizada por meio da análise de soluções do extrato em três níveis (50,00, 175,00 e 300,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), Para a avaliação da precisão

intermediária, estas amostras foram analisadas em três dias diferentes. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

Exatidão

Esse parâmetro foi avaliado comparando-se as concentrações determinadas em soluções do extrato, em três níveis de concentração diferentes (50,00, 175,00 e 300,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$), com seus valores de concentração real.

Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção e de quantificação foram determinados a partir do desvio padrão do ruído da linha de base do espectro, entre os comprimentos de onda de 300 e 250 nm.

Robustez

A determinação da robustez do método de quantificação foi realizada pela aplicação de mudanças deliberadas nas condições de análise. Estas mudanças foram: preparação das amostras por três diferentes analistas e leitura das amostras a diferentes temperaturas (25, 30 e 40 °C).

Determinação do perfil de dissolução

Foi utilizado um dissolutor modelo 299 (Nova Ética), com capacidade para três cubas. Os comprimidos foram dissolvidos em 900 mL de solução tampão fosfato (pH 6,8), utilizando-se o aparato de pás, à temperatura de 37 °C e agitação de 75 rpm. Durante o ensaio de dissolução, foram retiradas alíquotas de 3 mL nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos, que foram submetidas a leitura espectrofotométrica pelo método desenvolvido para quantificação da quantidade de extrato dissolvida no meio.

A robustez do método de dissolução foi analisada por variações deliberadas nas condições do ensaio, estas variações sendo: na agitação (50, 75 e 100 rpm) e na temperatura do meio (32, 37 e 42 °C)

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação e quantificação do marcador químico *X. americana* L.

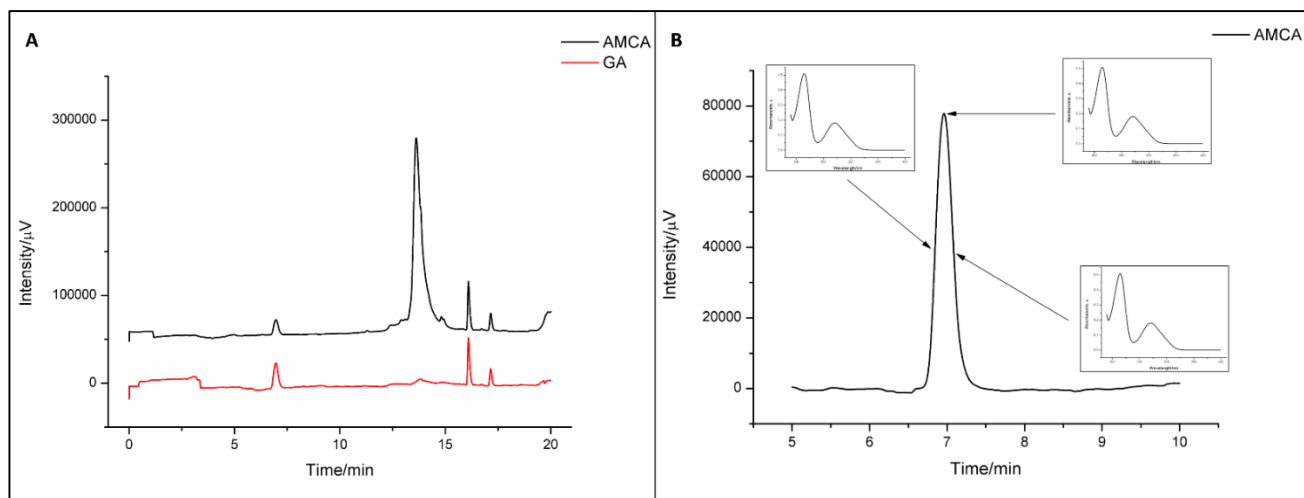
Entre os padrões cromatográficos, em comparação com o extrato nebulizado, aquele com o qual ocorreu correspondência do tempo retenção de pico foi o ácido gálico. O ácido gálico do extrato foi separado com sucesso através do método cromatográfico, sendo apresentado no tempo de retenção de 6,90 min. Os outros compostos foram eluídos em tempos de retenção acima de 12,50 min. Estes foram co-eluídos, provavelmente devido ao aumento da concentração de metanol na fase móvel, que pode transportar substâncias hidrófilas, tais como polifenóis, flavonóides e taninos, que estão presentes no extrato, de acordo com as quantificações realizadas e resultados apresentados na tabela 02. Os cromatogramas do extrato e do padrão são comparados na Figura 01 (A).

Tabela 01 – Concentrações de fitocompostos no extrato nebulizado de *X. americana*

Metabólitos	Teor (mg g ⁻¹)
Polifenóis totais	160,08 ± 1,15
Flavonóides totais	11,26 ± 0,06
Taninos condensados	94,75 ± 0,51

A Figura 01 (B) também apresenta a análise de especificidade do pico cromatográfico para o ácido gálico presente no extrato nebulizado. Três espectros UV-Vis, das metades e do valor máximo de altura do pico, respectivamente, foram comparados, e a sua semelhança calculada foi igual a 98,90% (Tabela 03). Este resultado mostra alta semelhança de espectros, o que indica uma alta eficiência de separação. Observou-se, como se mostra na figura 02, que a matriz de excipientes da formulação do comprimido não interfere na separação do ácido gálico, uma vez que não ocorre a co-eluição de outras substâncias, e o ácido gálico é detectado no mesmo tempo de retenção. Por conseguinte, este método de separação foi considerado eficaz para a quantificação do marcador químico do extrato.

Figura 01 – Análise de especificidade: (A) Comparação dos picos de ácido gálico no extrato e no padrão cromatográfico; (B) Espectros UV/Vis das alturas médias e máximas do pico de ácido gálico no extrato AMCA.



Para o método de quantificação de ácido gálico, foi estabelecido um modelo de calibração linear, através da aplicação de adição de padrão em concentrações crescentes em soluções do extrato. Como mostrado na Figura 03, a curva de calibração foi linear entre as concentrações de adição de 0 a 30 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com coeficiente de determinação R^2 igual a 0,9978. É importante salientar que o ácido gálico identificado e quantificado não necessariamente é o composto responsável pela atividade farmacológica do extrato vegetal. Entretanto, como marcador químico, essa substância será tomada em consideração como parâmetro para o controle da qualidade, para calcular o montante final do extrato vegetal nos comprimidos acabados (Rasheed et al., 2012).

Os resultados obtidos para repetibilidade e precisão intermediária mostram que o método de quantificação de ácido gálico fornece resultados concordantes, mesmo na presença de excipientes farmacêuticos. Esta informação é importante, uma vez que estes compostos são muitas vezes elementos interferentes, e devem ser considerados na análise de formulações farmacêuticas na indústria (Fereja, Seifu e Mola, 2015). Os coeficientes de variação (CV%) encontrados foram todos abaixo de 10%, como mostra a tabela 03. Para estes parâmetros, estes valores indicam um grau de precisão satisfatório, de acordo com estudos realizados por Kumar, Tharatha e Chaiyasut (2011) e Kartini (2012), e podem ser associados com a complexidade da matriz na qual o

marcador químico foi quantificado, a qual inclui uma grande variedade de compostos fitoquímicos e excipientes farmacêuticos.

Figura 02 – Análise de especificidade: comparação dos cromatogramas da formulação do comprimido, da matriz de excipientes e da mistura entre extrato, matriz e padrão de ácido gálico.

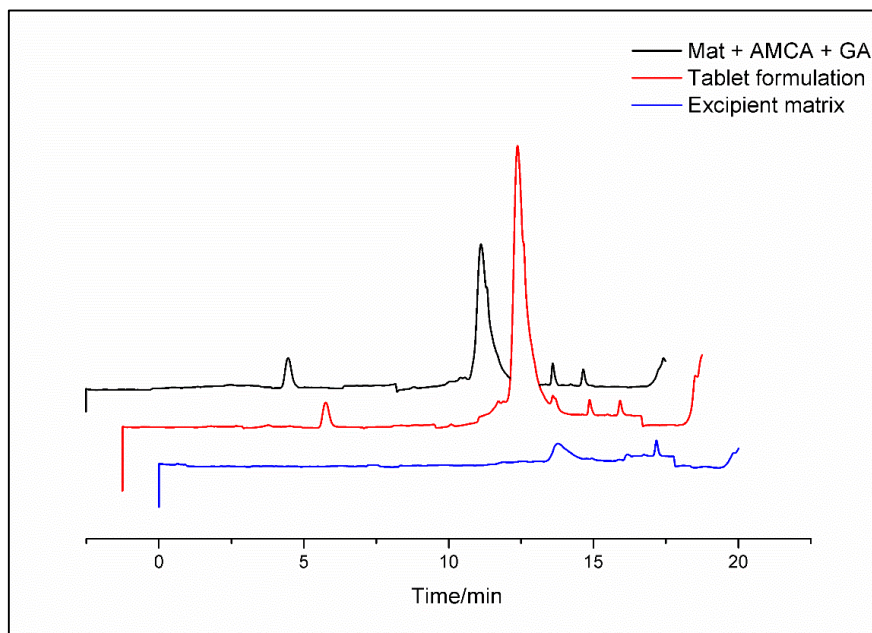
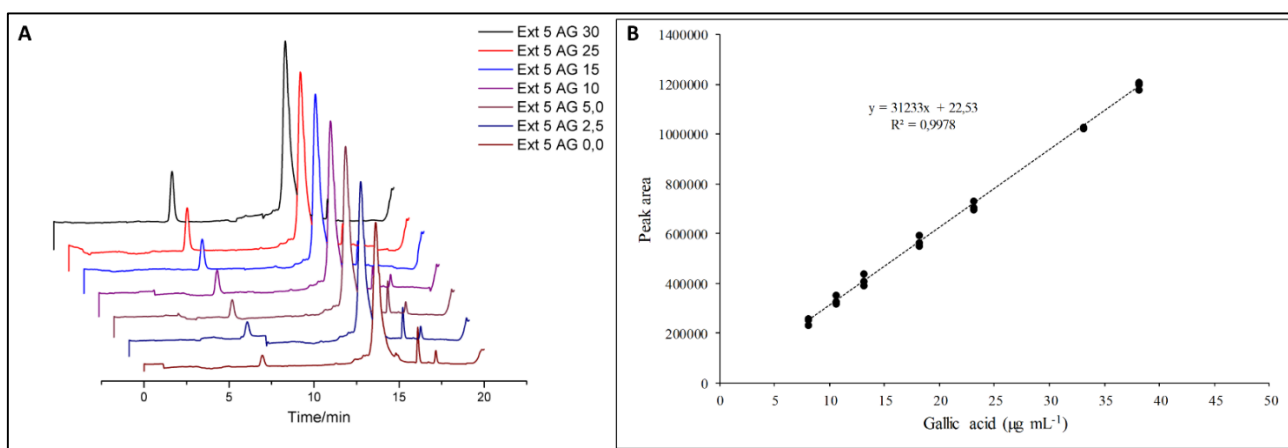


Figura 03 – Análise de linearidade: (A) Cromatogramas da curva de calibração; (B) Dados da curva de calibração



A análise de exatidão foi realizada utilizando três concentrações (2,50, 15,00 e 25,00 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do padrão adicionado em soluções do extrato a $5,00 \text{ mg mL}^{-1}$), de modo a considerar todo o intervalo da curva de calibração. Portanto, utilizou-se o método da adição de padrão neste ensaio, e considerou-se a concentração total de ácido gálico (do

Tabela 02 – Parâmetros de validação para o método cromatográfico de quantificação do marcador químico do extrato nebulizado de *X. americana* L.

Repetibilidade (CV%)			
Nível	Dia 01	Dia 02	Dia 03
Baixo	3,58	3,71	0,60
Médio	8,79	0,79	2,29
Alto	2,25	1,20	0,18
Precisão intermediária (CV%)			
Nível			
Baixo	11,10		
Médio	6,60		
Alto	8,48		
Exatidão (%)			
Nível	Intra-dia		Inter-dia
	Dia 01	95,81	
Baixo	Dia 02	102,17	102,66
	Dia 03	110,00	
	Dia 01	110,01	
Médio	Dia 02	102,28	102,92
	Dia 03	96,46	
	Dia 01	86,25	
Alto	Dia 02	102,06	95,07
	Dia 03	96,89	
Limites de detecção e quantificação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
L. de detecção	0,03		
L. de quantificação	0,10		
Especificidade			
Pureza de pico (%)	98,90		
Tempo de retenção (min)	6,91		
Linearidade			
Coefficiente R^2	0,9978		
Equação da reta	$y = 31233x + 22,53$		
$(MQ_{\text{faj}}/MQ_{\text{ep}})/F$	0,479/3,71		
$(MQ_{\text{reg}}/MQ_{\text{r}})/F$	1294,990/4,67		
Análise de resíduos	Distribuição homoscedástica de resíduos		
MQ_{faj} = Média quadrática da falta de ajuste MQ_{ep} = Média quadrática do erro puro MQ_{reg} = Média quadrática do modelo MQ_{r} = Média quadrática residual			

extrato e do padrão) para os cálculos. Os resultados da exatidão intra-dia e inter-dia de análise, apresentados na tabela 03, variaram no intervalo de 86,25 a 110,01%, o que está dentro do recomendado pela RDC 899/2003 da ANVISA - uma variação inferior a 15% - podendo ser considerados como aceitáveis para a quantificação de marcadores químicos em plantas.

Os limites de detecção e de quantificação, calculados a partir do desvio padrão ruído da linha de base do cromatograma, são apresentados na tabela 03, sendo 0,03 e 0,10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente. Estes valores encontram-se muito abaixo da concentração mínima de ácido gálico quantificada em soluções do extrato (8,08 $\mu\text{g mL}^{-1}$), permitindo a análise do marcador químico, nas concentrações estudadas.

A validação eficiente do método cromatográfico tornou viável a quantificação do teor de ácido gálico no extrato, o qual foi igual a 1,61 mg g^{-1} .

Desenvolvimento da formulação

As três formulações, apresentadas na tabela 04, foram analisadas nos estudos de desenvolvimento, a fim de escolher a mais adequada para a compressão. O extrato nebulizado foi também analisado, de forma isolada. O teor de extrato nas formulações foi fixado com base em um estudo de doseamento de potência antimicrobiana, anteriormente realizado pelo grupo de pesquisa (Brandão, 2014). As concentrações de TAL e CSD foram fixadas de acordo com as máximas recomendadas por Rowe, Sheskey e Quinn (2009), a fim de melhorar as propriedades de fluxo.

Tabela 03 – Concentrações percentuais dos componentes nas formulações propostas para o comprimido

Componente	Formulação 01 (%)	Formulação 02 (%)	Formulação 03 (%)
MC 102	35,50	33,00	41,00
PVP K-30	2,50	5,00	1,00
TAL	10,00	10,00	10,00
CSD	1,00	1,00	1,00
CRO	5,00	5,00	1,00
AMCA	46,00	46,00	46,00

A determinação do ângulo de repouso é um método utilizado para avaliar diretamente as propriedades de fluxo de pós (Maximiniano et al., 2010; Garcia, Pereira e Dias, 2012). Como esperado, o extrato nebulizado apresentou propriedades de fluxo

indesejáveis (Gallo et al., 2013) (tabela 05), as quais podem ser devidas às suas características amorfa e higroscópica, mesmo na presença de adjuvante de secagem. Em nenhuma das repetições de análise, houve fluxo de pó, por conseguinte, o tempo de fluxo foi considerado como infinito, sem ângulo de repouso. Isto mostra a necessidade de se incorporar lubrificantes e agentes de deslizamento na formulação fitoterápica, a fim de tornar o extrato vegetal adequado para a via de compressão direta.

As formulações foram produzidas com altas concentrações de deslizante e lubrificante, e diferentes concentrações dos excipientes poliméricos, que são aqueles com características pobres de fluxo (Rowe, Sheskey e Quinn, 2009). As formulações 01, 02 e 03 apresentaram excelentes ângulos de repouso (tabela 05), todos abaixo de 25° (excelente fluxo), o que demonstrou a melhora nas características de fluxo com os excipientes adicionados. No entanto, os tempos de escoamento foram mais curtos com baixas concentrações dos polímeros, caso da formulação 03.

Tabela 04 – Dados da caracterização dos pós no estudo de formulação

	AMCA	Form. 01	Form. 02	Form. 03
Densidade bruta (g mL ⁻¹)	0,32	0,41	0,41	0,36
Densidade de compactação (g mL ⁻¹)	0,55	0,52	0,58	0,58
Fator de Hausner	1,70	1,25	1,39	1,60
Índice de Carr (%)	41,30	20,31	28,35	37,80
Índice de densificação (mL)	3,66	4,00	5,33	5,66
Ângulo de repouso (°)	-	< 25	< 25	< 25
Tempo de escoamento (s)	∞	0,91	0,78	0,62

Técnicas indiretas de determinação das propriedades tecnológicas de pós, tais como fator de Hausner e o índice de Carr, também são levados em consideração nos estudos de formulação de sólidos (Bernatoniene et al., 2010). No entanto, os resultados obtidos para estes coeficientes apontaram propriedades intermediárias para todas as amostras (Tabela 05).

O fator de Hausner (FH) é uma medida indireta da facilidade de fluxo de pó, e de acordo com sua classificação, os pós analisados apresentaram propriedades de fluxo pobre (AMCA e formulação 03) e moderadamente boas (formulações 01 e 02), o que

entra em conflito com a informação dada pelo ensaio ângulo de repouso (Gupta et al., 2013).

Por sua vez, o índice de Carr (IC) mede indiretamente a adequação de um pó para compressão, relativa às suas interações interparticulares (Gupta et al., 2013). Os resultados classificam os pós das formulações como muito, muito pobre (AMCA), razoável (de formulação 01), pobre (formulação 02) e muito pobre (03). Estes resultados estão provavelmente relacionados com o grau de coesão entre as partículas dos polímeros no processo de densificação.

Quando ocorre a redução nas concentrações de polímeros, a partir da formulação 01 para a formulação 03, o índice de densificação é aumentado (tabela 05), o que mostra que a formulação exhibe maior propriedade de reorganização das suas partículas, permitindo-lhe formar comprimidos mais compactos, uniformes e resistentes após a compressão. Portanto, a formulação 03 foi escolhida como a mais adequada para a compressão direta, de acordo com as medidas indiretas de fluxo.

Desenvolvimento e padronização dos comprimidos *X. americana* L.

Um lote de 100 comprimidos foi produzido a partir da formulação 03. Trinta comprimidos foram retirados para a determinação do peso médio, representando todo o processo de compressão. As medidas são apresentadas na figura 04. O peso médio calculado dos comprimidos foi igual a 302,20 mg (Tabela 05), com medidas variando de 283,40 a 313,80 mg. Este primeiro valor encontra-se abaixo do limite de desvio de 5%, que é preconizado pela Farmacopéia Americana (2012), no entanto, uma vez que apenas uma medida ficou abaixo do limite, considera-se aceitável o resultado da determinação do peso médio, com uma boa distribuição da formulação em cada ciclo de compressão. Isto também indica que propriedades de fluxo desejáveis foram obtidas na formulação 03.

A dureza e a friabilidade foram dois parâmetros analisados a fim de prever a resistência dos comprimidos durante os processos de embalagem e transporte após a produção. Os comprimidos produzidos apresentaram uma dureza média de 45,15 N (tabela 06). Alguns autores (Afifi e Ahmadeen, 2012) apontam de que a dureza mínima para assegurar a estabilidade física de comprimidos é de 40,00 N, o que mostra que o lote obtido cumpre a especificação para dureza. Além disso, a friabilidade calculada

para os comprimidos foi igual a 0,34% (Tabela 06), o que também está de acordo com o limite máximo de 1,50% preconizado pela Farmacopéia Americana (2012).

O tempo de desintegração médio para os comprimidos analisados foi igual a 06 min e 08 s (tabela 06), para o meio de água purificada a 37 ° C. Uma vez que o estudo propõe uma formulação de liberação retardada, este tempo de desintegração é desejável para propiciar o início do processo de dissolução num intervalo de tempo curto. A Farmacopéia Americana (2012) estabelece que o tempo máximo de desintegração de comprimidos de liberação imediata é de 30 min.

O teor de extrato determinado nos comprimidos pelo método cromatográfico (Tabela 07) variou entre 92,78 e 99,35%, sendo a variação inferior a 10%, o que pode ser considerada uma variação de teor discreta (USP, 2012). Isto está provavelmente relacionado com a eficiência na mistura geométrica de componentes e com o fluxo satisfatório do pó no processo de compressão, possibilitando uma dosagem uniforme do extrato, em cada ciclo de compressão.

Figura 04 – Dados do ensaio de peso médio

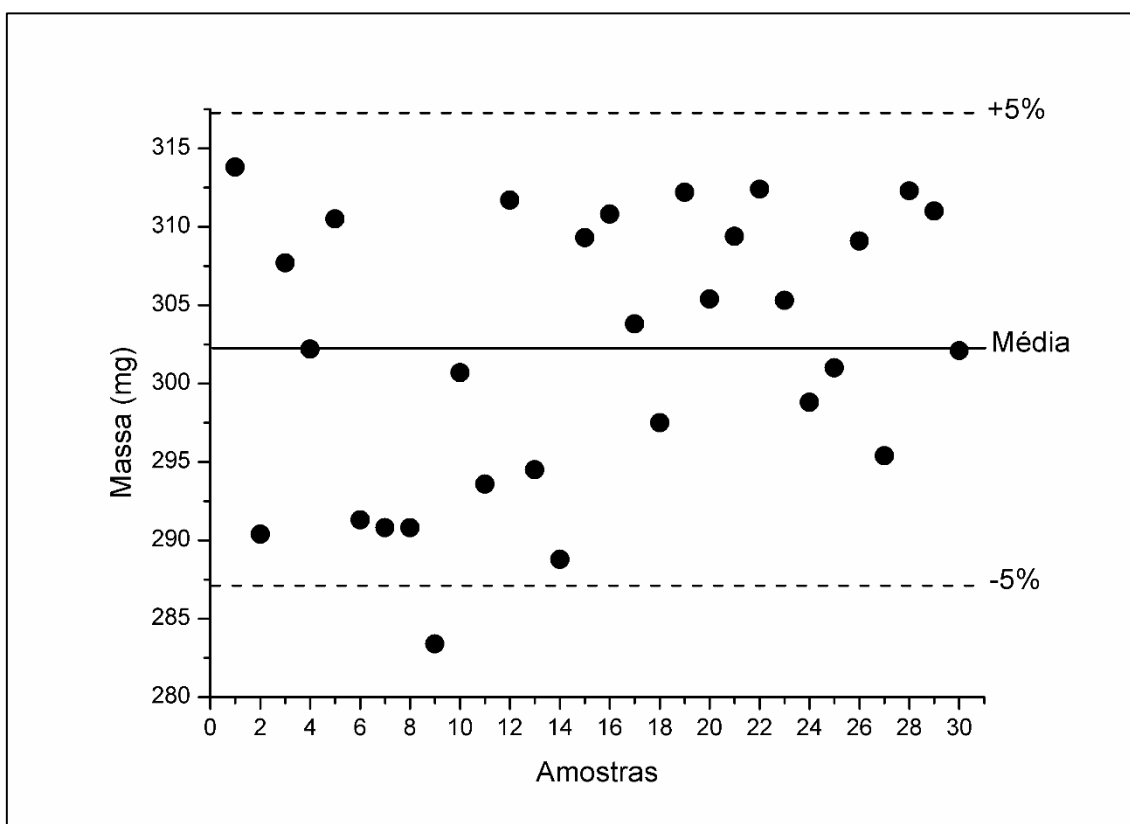


Tabela 05 – Dados da caracterização do lote de comprimidos obtido

Parâmetro	Resultado	Especificação
Peso médio (mg)	302,20 ± 8,75	287,09 a 317,31 mg
Dureza (N)	45,15 ± 18,87	40,00 a 60,00 N
Friabilidade (%)	0,34	< 1,50%
Tempo de desintegração (min)	6,11 ± 2,03	< 30 min

Tabela 06 – Dados da análise de uniformidade de conteúdo por HPLC

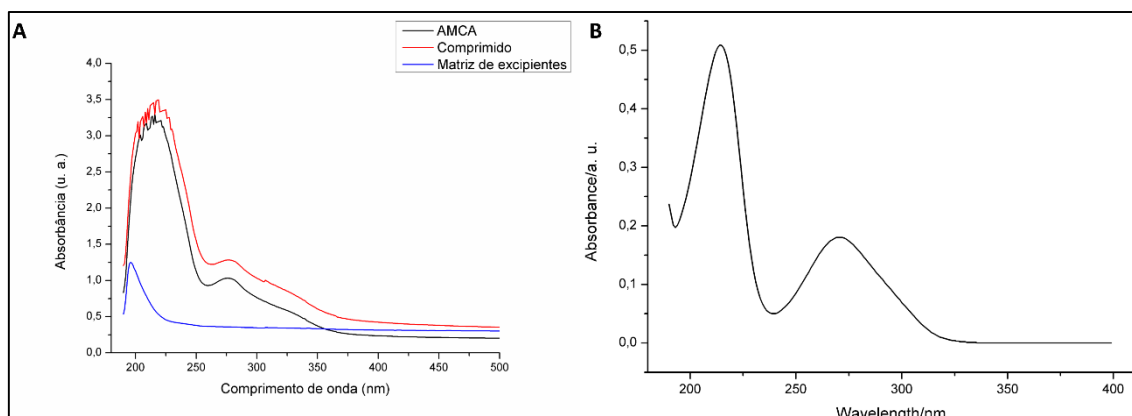
Amostra	Teor do extrato (mg)		Teor do extrato (%)
	Medido	Esperado	
1	207,19		92,94
2	208,46		93,51
3	221,49	222,92	99,35
4	219,00		98,24
5	206,83		92,78

Determinação do perfil de dissolução dos comprimidos de *X. americana* L.

A varredura espectrofotométrica do extrato nebulizado apresentou uma banda de absorvância na região do UV, com pico ao comprimento de onda de 276 nm (Figura 07 A), este pico pode ser associado à presença do marcador químico (ácido gálico), que também apresenta um pico de absorção neste comprimento de onda (Figura 07 B). Entretanto, conforme apresentado na Figura 01 (A) o extrato contém outros compostos com absorção nessa região. Em todo caso, este comprimento de onda foi tomado como referência para a quantificação espectrofotométrica do extrato.

A Figura 07 (A) também apresenta a análise de especificidade do método espectrofotométrico de quantificação. É possível observar que a banda de absorvância com pico em 276 nm não é influenciada pela presença da matriz de excipientes do comprimido, e que esta, por sua vez, não apresenta absorvância nessa região. Desta forma, pode-se afirmar que o método desenvolvido é específico e pode ser utilizado para a detecção do extrato na região do UV.

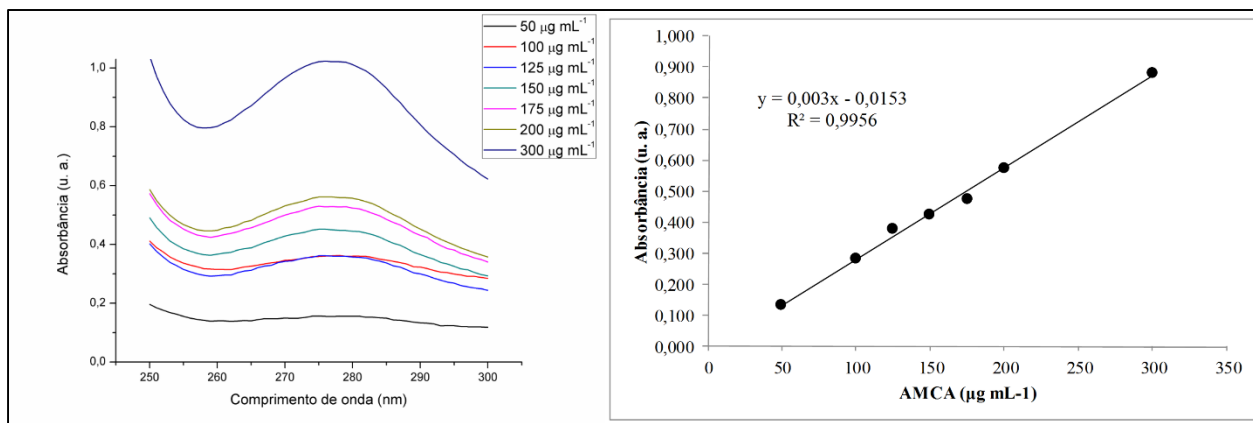
Figura 05 – Análise de especificidade: (A) Espectros UV-Vis das amostras avaliadas; (B) Espectro UV-Vis do marcador químico (ácido gálico)



Uma vez que o pico de absorção referente ao extrato nebulizado foi detectado em 276 nm, escolheu-se realizar varredura na faixa entre 300 e 250 nm para a construção das curvas de calibração para o método. Os espectros obtidos (Figura 08 A) mostraram diferenciação quantitativa da concentração do extrato, e como consequência, obteve-se curvas de calibração com ajuste linear satisfatório, com coeficiente de determinação igual a 0,9956. Os demais dados referentes à linearidade do método são apresentados na Tabela 09.

Na tabela 09, também estão descritos os dados referentes a repetibilidade, precisão intermediária e exatidão do método. Para os dois primeiros, os resultados de coeficiente de variação obtidos (menores que 10%) e os resultados obtidos para exatidão (variação menor do que 15%) indicam alto grau de eficiência do método, que foi capaz de quantificar a concentração do extrato sem a necessidade de pré-processamento da amostra, e fornecer resultados concordantes em todos os dias de análise (Brasil, 2003; Kumar, Tharatha e Chaiyasut, 2011; Kartini, 2012).

Figura 06 – Análise de linearidade: (A) Espectros da curva de calibração; (B) Dados da curva de calibração



Os limites de detecção e quantificação obtidos (Tabela 09) para o comprimento de onda de 276 nm foram considerados satisfatórios, uma vez que correspondem a concentrações abaixo do modelo linear de calibração, indicando que o ruído da linha de base característico do equipamento utilizado não interfere na determinação de soluções a concentrações dentro dos limites da curva.

O método foi considerado robusto frente à variação de analistas aplicada no ensaio, mostrando variações menores que 15% (Tabela 09) na leitura das amostras preparadas, nos três níveis analisados. Entretanto, a variação da temperatura de leitura das amostras mostrou-se ser um parâmetro de interferência para este método, com variações superiores a 15% nas temperaturas de 30 e 40 °C nos níveis médio e alto de análise (Tabela 09). Esta variação pode ser devida tanto à possível degradação de componentes termossensíveis do extrato, que pode ocorrer com o aumento da temperatura, quanto também a mudanças no perfil de ionização de compostos polifenólicos presentes neste, que podem causar alterações na intensidade de absorção ou deslocamentos de banda na região do UV.

O perfil de dissolução médio obtido para os comprimidos avaliados, juntamente com sua variação mínima e máxima, é apresentado na figura 09. Na região do perfil entre zero e 30 minutos, é possível observar uma fase de rápida dissolução em que as concentrações variam de 33,23% em 10 min a um máximo de 86,00% de dissolução em 25 min.

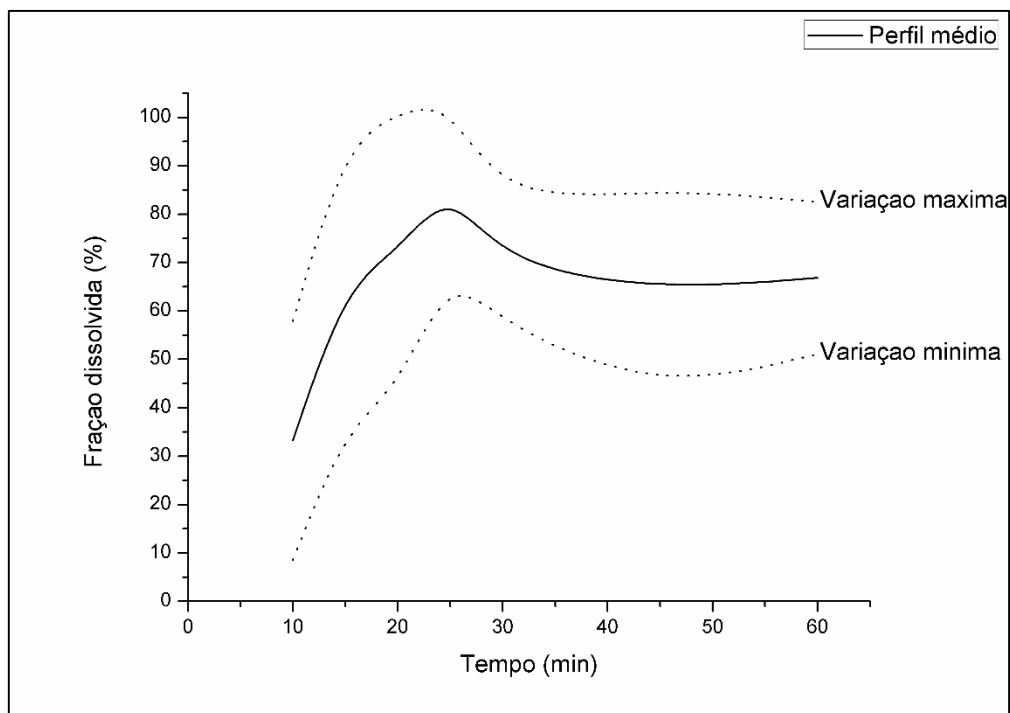
Tabela 07 – Parâmetros de validação para o método espectrofotométrico de quantificação do extrato.

Repetibilidade (CV%)			
Nível	Dia 01	Dia 02	Dia 03
Baixo	2,40	5,97	9,99
Médio	6,18	1,36	1,06
Alto	4,34	5,06	3,00
Precisão intermediária (CV%)			
Nível			
Baixo	5,23		
Médio	9,45		
Alto	8,94		
Exatidão (%)			
Nível		Intra-dia	Inter-dia
Baixo	Dia 01	111,20	
	Dia 02	95,56	104,33
	Dia 03	106,22	
Médio	Dia 01	111,80	
	Dia 02	92,27	101,47
	Dia 03	100,34	
Alto	Dia 01	98,82	
	Dia 02	86,58	93,27
	Dia 03	94,41	
Limites de detecção e quantificação ($\mu\text{g mL}^{-1}$)			
L. de detecção	12,89		
L. de quantificação	39,08		
Especificidade			
Pico de absorção (nm)	276		
Linearidade			
Coefficiente R^2	0,9956		
Equação da reta	$y = 0,003x - 0,0153$		
$(MQ_{\text{faj}}/MQ_{\text{ep}})/F$	0,297/2,96		
$(MQ_{\text{reg}}/MQ_{\text{r}})/F$	319,616/4,38		
Análise de resíduos	Distribuição homoscedástica de resíduos		
Robustez (CV%)			
Analista 01	Baixo		8,77
	Médio		12,60
	Alto		12,95
Analista 02	Baixo		4,26
	Médio		3,16
	Alto		8,78
30 °C	Baixo		3,55
	Médio		13,57
	Alto		17,34*
40 °C	Baixo		1,54
	Médio		18,53*
	Alto		18,96*

* = Variação considerada significativa (superior a 15,00%)

MQ_{faj} = Média quadrática da falta de ajusteMQ_{ep} = Média quadrática do erro puroMQ_{reg} = Média quadrática do modeloMQ_r = Média quadrática residual

Figura 07 – Perfil médio de dissolução dos comprimidos e variações mínima e máxima.



A significativa fração dissolvida no primeiro ponto do perfil, e a rápida dissolução até o tempo de 25 min, estão provavelmente relacionadas à presença da croscarmelose sódica na formulação, que proporciona uma rápida desintegração do comprimido e, com isso, propicia o início do processo de dissolução de forma rápida e uniforme em todo o comprimido.

No tempo de 5 min, não foi detectada a presença do extrato dissolvido no meio, em nenhum dos comprimidos analisados. Relaciona-se este achado com o tempo necessário para o início do processo de desintegração do comprimido, que em todas as amostras foi superior a 5 e inferior a 10 min, o que corrobora com o resultado encontrado no ensaio de tempo de desintegração. Durante os primeiros 5 min, o comprimido provavelmente encontra-se ainda na fase de absorção de água do meio pelo desintegrante, um influxo de solvente necessário para que ocorra a desintegração. Após esta etapa, o processo de desintegração ocorre de forma rápida.

Após o tempo de 25 min, o perfil médio de dissolução apresenta uma queda na fração dissolvida, de 86,00 para 69,48% em 30 min, e em seguida estabiliza-se entre 64,27 e 66,84% a partir de 45 min. Este comportamento, geralmente incomum em estudos de dissolução, indica a possível formação de um sistema supersaturado do extrato no meio de dissolução no tempo de 25 min, com posterior precipitação do

excesso dissolvido a partir desse tempo, causando a queda na fração dissolvida que é observada a partir de 30 min.

A formação de sistemas supersaturados durante a dissolução de comprimidos é relatada na literatura principalmente para IFAs de caráter amorfo, como é o caso do extrato nebulizado de *X. americana* L., devido a sua alta solubilidade, pela ausência de uma estrutura cristalina em suas partículas. A dissolução é acelerada tanto pela presença de um “superdesintegrante” como a croscarmelose, quanto pela presença do PVP K-30 como aglutinante na formulação (Van Drooge, Hinrichs e Frijlink, 2004).

Este último, ao encontrar-se disperso no meio de dissolução, possuiria a capacidade de agregar em suas partículas compostos dissolvidos do extrato, através de interações mediadas por atrações eletrostáticas entre suas partículas. A formação destes complexos solúveis no meio propiciaria a dissolução do extrato em maior extensão, até a formação de um sistema supersaturado. O PVP também é reportado por possuir a propriedade de aumentar a fração dissolvida que se estabiliza no meio após a precipitação do excesso de IFA (Abu-Diak, Jones e Andrews, 2011; Qian et al., 2012). Isto indica que alterações posteriores na proporção de PVP K-30 na formulação poderiam ser feitas no intuito de aumentar a fração dissolvida do extrato após o tempo de 30 min.

Um ensaio de avaliação da robustez do método de dissolução foi realizado, e os resultados estão dispostos na Tabela 10. Os dados mostram que a variação na temperatura do meio para 32 °C não afetou o perfil de dissolução dos comprimidos; entretanto, o aumento na temperatura para 42 °C proporcionou um aumento significativo na fração dissolvida nos primeiros 20 minutos do ensaio. O aumento da temperatura foi então considerado um fator crítico de variação no ensaio, provavelmente relacionado à sua influência sobre a desintegração do comprimido.

Mudanças na agitação, tanto para 50 quanto para 100 rpm, mostraram ser fatores de variação no ensaio, até o tempo de 20 min. Esta variação está provavelmente relacionada a mudanças na força mecânica que intensifica o processo de desintegração do comprimido.

Tabela 08 – Coeficientes de variação referentes aos ensaios de robustez do método de dissolução.

Condição	Tempo (min)	Coeficiente de variação (CV%)
32 °C; 75 rpm	05	12,48
	10	0,07
	15	2,10
	20	11,01
	25	12,01
	30	6,13
	45	14,27
	60	1,25
42 °C; 75 rpm	05	99,46*
	10	81,39*
	15	53,58*
	20	31,08*
	25	3,82
	30	12,60
	45	13,18
	60	3,08
37 °C; 50 rpm	05	81,96*
	10	78,05*
	15	49,66*
	20	20,73*
	25	2,01
	30	9,64
	45	12,59
	60	9,76
37 °C; 100 rpm	05	44,39*
	10	62,50*
	15	49,04*
	20	9,27
	25	2,89
	30	8,26
	45	0,24
	60	9,10

* = Variação considerada significativa (superior a 15,00%)

CONCLUSÃO

O estudo desenvolveu uma formulação de comprimido com alto teor de extrato nebulizado a partir de *X. americana*, a qual foi adequada para a produção através de

compressão direta. A escolha dos componentes e proporções dos pós foi determinada após o estudo de compatibilidade extrato-excipiente, realizado anteriormente, e principalmente pelas propriedades de fluxo do extrato, que é a característica mais importante para a sua formulação. A utilização de excipientes adequados e compatíveis garante a obtenção de comprimidos com boas propriedades de qualidade e características reprodutíveis.

O perfil de dissolução dos comprimidos contendo extrato nebulizado apresentou a possibilidade da formação de um sistema supersaturado durante o ensaio de dissolução. Este fenômeno, embora incomum em estudos dessa natureza, relaciona-se às propriedades de estado sólido do extrato e à própria composição da formulação.

A determinação e quantificação do marcador químico no extrato foi um passo importante no desenvolvimento, não apenas para permitir o conhecimento da sua composição, mas, principalmente, para proporcionar um importante parâmetro de qualidade do produto acabado, sendo fundamental para garantir a eficácia terapêutica do produto.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CERTBIO/UEPB pela realização das análises de termogravimetria e HPLC-UV, e ao LAQA/UFPB pela realização das análises de HPLC-DAD.

REFERÊNCIAS

ABU-DIAK, Osama A.; JONES, David S.; ANDREWS, Gavin P. An investigation into the dissolution properties of celecoxib melt extrudates: understanding the role of polymer type and concentration in stabilizing supersaturated drug concentrations. **Molecular pharmaceutics**, v. 8, n. 4, p. 1362-1371, 2011.

AFIFI, Samar A.; AHMADEEN, Shaimaa. A comparative study for evaluation of different brands of metformin hydrochloride 500 mg tablets marketed in Saudi Arabia. **Life Science Journal**, v. 9, n. 4, p. 4260, 2012.

ATKINS, Peter; JONES, Loretta. **Princípios de Química: questionando a vida moderna e o meio ambiente**. Trad. Ricardo Bicca de Alencastro. Porto Alegre: Bookman, 2011.

BERNATONIENE, Jurga; PETKEVICIUTE, Zivile; KALVENIENE, Zenona; MASTEIKOVA, Ruta; DRAKSIENE, Gailute; MUSELIK, Jan; BERNATIONIENE, Ruta; LAZAUSKAS, Robertas; SAVICKAS, Arunas. The investigation of phenolic compounds and technological properties of Leonurus, Crataegus and Ginkgo extracts. **J Journal of Medicinal Plants Research**, v. 4, p. 925-31, 2010.

BRANDÃO, Deysiane Oliveira. **Desenvolvimento de uma formulação de uso intracanal com atividade antimicrobiana obtida a partir de uma planta do semiárido brasileiro**. 130p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Universidade Estadual da Paraíba, 2014.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. **Brasília, Diário Oficial da União**, de 02 de junho de 2003.

CARTAXO, Sarahbelle Leitte; SOUZA, Marta Maria de Almeida; ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino. Medicinal plants with bioprospecting potential used in semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 131, n. 2, p. 326-342, 2010.

CHAVES, T.P.; SANTANA, C.P.; VÉRAS, G.; BRANDÃO, D.O.; FELISMINO, D.C.; MEDEIROS, A.C.D.; TROVÃO, D.M.B.M. Seasonal variation in the production of secondary metabolites and antimicrobial activity of two plant species used in Brazilian traditional medicine. **African Journal of Biotechnology**, v.12, n.8, p.847-853, 2013.

FEREJA, Tadesse Haile; SEIFU, Muluneh Fromsa; MOLA, Tizita Yirga. UV-Visible Spectrophotometric Method Development and Quantification of Ciprofloxacin in Tablets Dosage Form. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2015.

GALLO, Loreana; RAMÍREZ-RIGO, María Verónica; WILSON, Erica; PIÑA, Juliana; ALLEMANDI, Daniel; BUCALÁ, Verónica. Spray-Dried Cascara Sagrada extract for direct compression: tablet formulation and a simple HPLC method for tablet performance evaluation. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, vol. 4, p. 1360-1370, 2013.

GARCIA, Ariane Quilles Rocha; PEREIRA, Tamires Cristina Borgomani; DIAS, Iara Lúcia Tescarollo. Estudo das propriedades de fluxo no desenvolvimento de paracetamol pó veiculado em sachê. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 469-475, 2012.

GUPTA, Ramchandra; SHARMA, Prabhakar; GARG, Ashish; SONI, Ankita; SAHU, Apoova; RAI, Shubhra; RAI, Shruti; SHUKLA, Ajay. Formulation and Evaluation of

Herbal Effervescent Granules Incorporated with Calliandra Haematocephala Leaves Extract. **Indo American Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 6, p. 4366-4371, 2013.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE - ICH. Validation of analytical procedures: text and methodology. **Q2 (R1)**, v. 1, 2005.

KARTINI, Azminah. Chromatographic fingerprinting and clustering of *Plantago major* L. from different areas in Indonesia. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 5, n. 4, p. 191-195, 2012.

KUMAR, Naphatsorn; THARATHA, Somsak; CHAIYASUT, Chaiyavat. Development and validation of simple isocratic high performance liquid chromatography-ultraviolet (HPLC-UV) method for determination of safflower yellow in *Carthamus tinctorius* L.-loaded nanostructured lipid carriers (NLC). **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 20, p. 2335-41, 2011.

MAKKAR, H. P. S.; BECKER, K. Vanillin-HCl method for condensed tannins: Effect of organic solvents used for extraction of tannins. **Journal of Chemical Ecology**, n. 4, v. 19, 1993.

MAXIMIANO, Flávia Pires; COSTA, Gilherme Hideki Yoshizane; SOUZA, Jacqueline de; CUNHA-FILHO, Marcílio Sérgio Soares da. Physicochemical characterization of antichagasic benzimidazole. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714-1719, 2010.

OLIVEIRA, Marcelo Antônio de; YOSHIDA, Maria Irene; GOMES, Elionai Cassiana de Lima; Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

PEIXOTO, Maíra Moreira; JÚNIOR, Aníbal de Freitas Santos; SANTOS, Carlos Alberto Alves; JÚNIOR, Edimar Caetité. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana – BA. **Infarma**, v. 16, n. 13-14, p. 69-73, 2005.

QIAN, F.; WANG, J.; HARTLEY, R.; TAO, J.; HADDADIN, R.; MATHIAS, N.; HUSSAIN, M. Solution behavior of PVP-VA and HPMC-AS-based amorphous solid dispersions and their bioavailability implications. **Pharmaceutical research**, v. 29, n. 10, p. 2766-2776, 2012.

RASHEED, N. M. A.; NAGAIAH, K.; GOUD, P. R.; SHARMA, V. U. M. Chemical marker compounds and their essential role in quality control of herbal medicines. **Annals of phytomedicine**, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2012.

ROWE, Raymond C.; SHESKEY, Paul J.; QUINN, Marian C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6^a ed. Washington: Pharmaceutical Press, 2009.

SILVA, K. M. A.; CHAVES, T. P.; SANTOS, R. L.; BRANDAO, D. O.; FERNANDES, F. H. A.; JÚNIOR, F. J. D. L. R.; SANTOS, V. L.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D. Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 2, p. 92-98, 2015.

SILVA, M. S. P.; BRANDAO, D. O.; CHAVES, T. P.; FORMIGA FILHO, A. L.; COSTA, E. M. M. D. B.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid northeast: contribution to the control of oral microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. Trigésima sexta edição. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention (USP), 2012.

VAN DROOGE, D. J.; HINRICHS, W. L. J.; FRIJLINK, H. W. Anomalous dissolution behaviour of tablets prepared from sugar glass-based solid dispersions. **Journal of controlled release**, v. 97, n. 3, p. 441-452, 2004.

VIUDA-MARTOS, M.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; PÉREZ-ÁLVAREZ, J. A. Pomegranate and its many functional components as related to human health: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 9, n. 6, p. 635-654, 2010.

6. CONCLUSÃO

O surgimento e rápida expansão das diversas formas de resistência antimicrobiana é uma problemática que requer atenção imediata de pesquisadores, autoridades sanitárias e também da população em geral. Ao mesmo tempo que medidas como o uso racional de antimicrobianos e a contenção da disseminação de cepas resistentes devem ser adotadas, a busca por novas formas de combate a estas cepas deve ser ainda mais incentivada.

O uso de plantas medicinais se mostra uma alternativa interessante na terapia antimicrobiana, seja de forma isolada ou em associação a antimicrobianos sintéticos. Qualquer que seja a alternativa adotada, é importante adequar o uso destas plantas, tornando seu uso mais acessível e prático – o que facilita a adesão ao tratamento – quanto também mais seguro e eficaz, por meio da formulação de medicamentos de qualidade a partir de extratos padronizados.

A principal dificuldade na formulação de uma forma farmacêutica sólida contendo extrato nebulizado é o melhoramento de suas propriedades farmacotécnicas. Para tanto, o uso de excipientes de diversas classes é essencial, em concentrações consideráveis. A seleção destes componentes pode ser feita com a utilização de técnicas analíticas, pois estas se mostram muito eficientes na avaliação da compatibilidade e detecção de incompatibilidades entre o extrato vegetal e os excipientes farmacêuticos.

Com o uso de excipientes compatíveis, é possível melhorar as propriedades de fluxo do extrato vegetal, a ponto de torná-lo viável para o processo de compressão direta, e obter comprimidos com características de qualidade dentro das especificações farmacopéicas.

O presente estudo demonstrou a possibilidade da obtenção de comprimidos contendo alto teor de ingrediente ativo farmacêutico vegetal pela via de compressão direta, a mais indicada para a produção de comprimidos fitoterápicos.

Os estudos de desintegração e dissolução realizados indicaram uma cinética de liberação satisfatória *in vitro*. Entretanto, estudos *in vivo* para avaliar sua liberação e eficácia ainda podem ser necessários.

Os parâmetros farmacopéicos de qualidade analisados mostraram resultados que cumprem as especificações estabelecidas, o que indica que o desenvolvimento da

formulação almejada por este estudo alcançou seus objetivos, obtendo-se um produto com características de qualidade aceitáveis para a produção em larga escala.

7. REFERÊNCIAS

ARAÚJO, P.; LEMOS, M.; MERGULHÃO, F.; MELO, L.; SIMÕES, M. Antimicrobial resistance to disinfectants in biofilms. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**. Espanha: Formatex, 2011.

ARIAS, Cesar A.; MURRAY, Barbara E. The rise of the *Enterococcus*: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology**, v. 10, n. 4, p. 266-278, 2012.

ASRES, K.; BUCAR, F.; KARTING, T.; WITVROUW, M.; PANNECOUQUE, C.; CLERQ, E. De. Antiviral activity against human immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and Type 2 (HIV-2) of ethnobotanically selected Ethiopian medicinal plants. **Phytotherapy research**, v. 15, p. 62-69, 2001.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 1, p. 3-26, 2010.

BRASILEIRO, Mariana T.; EGITO, Amanda A. do; LIMA, Januária R. de; RANDAU, Karina P.; PEREIRA, Gustavo C.; NETO, Pedro J. R. *Ximenia americana* L.: botany, chemistry and pharmacology in the pharmaceutical technology interest. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 89, p. 164-167, 2008.

CHANDA, Sumitra; RAKHOLIYA, Kalpna. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. **Microbiol Book Series**, p. 520-529, 2011.

CHOUDHARY, Neeraj; SEKHON, Bhupinder Singh. An overview of advances in the standardization of herbal drugs. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 2, n. 2, p. 55-70, 2011.

CHOWDHURY, Md. Al Nayem; ASHRAFUZZAMAN, M.; ALI, Md. Hazrat; LIZA, Lutfun Nahar; ZINNAH, Kazi Mohammad Ali. Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants against Multi Drug Resistant Human Pathogens. **Advances in Bioscience and Bioengineering**, v. 1, n. 1, 2013.

COGLIANI, Carol; GOOSSENS, Herman; GREKO, Christina. Restricting antimicrobial use in food animals: lessons from Europe. **Microbe**, v. 6, n. 6, p. 274, 2011.

COSTA, Edja M. M. B.; BARBOSA, Ariel S.; ARRUDA, Thulio A.; OLIVEIRA, Patrícia T.; DAMETTO, Fábio R.; CARVALHO, Rejane A. de; MELO, Maria das

Dores. In vitro antimicrobial activity of plant extracts against *Enterococcus faecalis*. **Brazilian Journal of Medical and Laboratorial Pathology**, v. 46, p. 175-180, 2010.

DEBNATH, G. Sushma Subal; KUMAR, Santhosh C.; CHANDU, Atul N. Quality and regulatory affairs of herbal drugs: A world-wide Review. **American Journal of Pharm Research**, v. 1, n. 5, p. 389-396, 2011.

FABRI, Rodrigo Luiz; COSTA, Juliana Aparecida batista Marques da. Perfil farmacognóstico e avaliação das atividades citotóxica e antibacteriana de *Bromelia antiacantha* Bertol. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 9, n. 2, p. 37-48, 2012.

FEYSSA, D. H., NJOKA, J. T., ASFAW, Z., & NYANGITO, M. M. Uses and management of *Ximenia americana*, Olacaceae in semi-arid east Shewa, Ethiopia. **Pakistan Journal of Botany**, v. 44, n. 4, p. 1177-1184, 2012.

GALLO, Loreana; RAMÍREZ-RIGO, María Verónica; WILSON, Erica; PIÑA, Juliana; ALLEMANDI, Daniel; BUCALÁ, Verónica. Spray-Dried Cascara Sagrada extract for direct compression: tablet formulation and a simple HPLC method for tablet performance evaluation. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, vol. 4, p. 1360-1370, 2013.

GARG, V.; DHAR, V. J.; SHARMA, A.; & DUTT, R. Facts about standardization of herbal medicine: a review. **Journal of Chinese Integrative Medicine**, v. 10, n. 10, p. 1077-1083, 2012.

GATKAL, S.; PUNDE, A.; BALAP, A.; CHAUDHARI, P. Safety of herbal medicine: a review. **International Journal Of Pharmaceutical And Chemical Sciences**, v. 1, n. 4, p. 1624-1639, 2012.

GOTTLIEB, Thomas; NIMMO, Graeme R. Antibiotic resistance is an emerging threat to public health: an urgent call to action at the Antimicrobial Resistance Summit 2011. **Medical Journal of Australia**, v. 194, n. 6, p. 281-283, 2011.

HEAD, Michael G.; FITCHETT, Joseph R.; ATUN, Rifat. Investing in antimicrobial resistance research. **British Journal of Hospital Medicine**, v. 75, n. 1, p. 6-7, 2014.

HUTTNER, A.; HARBARTH, S.; CARLET, J.; COSGROVE, S.; GOOSSENS, H.; HOLMES, A.; JARLIER, V.; VOSS, A.; PITTET, D. Antimicrobial resistance: a global view from the 2013 World Healthcare-Associated Infections. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 2, p. 31, 2013.

JAMES, D. B.; ABU, E. A.; WUROCHEKKE, A. U.; ORJI G. N. Phytochemical and antimicrobial investigation of the aqueous and methanolic extracts of *Ximenia Americana*. **Journal of Medical Sciences**, v. 7, p. 284-288, 2007.

JAVERIA, S.; SHAHI, S. K.; SHAHI, M. P.; UPRETI, D. K. *Parmotrema nilgherrense*: potential antimicrobial activity against drug resistant pathogens. **International Journal of Microbial Resource Technology**, v. 2, n. 1, p. 36-40, 2013.

KHAN, Haroon; RAUF, Abdur. Medicinal plants: economic perspective and recent developments. **World Applied Sciences Journal**, v. 31, n. 11, p. 1925-1929, 2014.

KONÉ, W. M.; ATINDEHOU, K. K.; TERREAUX, C.; HOSTETTMANN, K.; TRAORÉ, D.; DOSSO, M. Traditional medicine in North Côte-d'Ivoire: screening of 50 medicinal plants for antibacterial activity. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, p. 43-49, 2004.

MAGIORAKOS, Anna-Pelagia; SUETENS, Carl; MONNET, Dominique L; GAGLIOTTI, Carlo; HEUER, Ole E. The rise of carbapenem resistance in Europe: just the tip of the iceberg?. **Antimicrobial Resistance and Infection Control**, v. 2, n. 6, 2013.

MONTE, F. J. Q.; GOMES, E. de Sousa; ARAÚJO, M. R. S. de; LEMOS, T. L. G. *Ximenia americana*: Chemistry, Pharmacology and Biological Properties, a Review. **INTECH Open Access Publisher**, 2012.

NAMASIVAYAM, S.; Karthick Raja; ROY, E. Allen. Anti biofilm effect of medicinal plant extracts against clinical isolate of biofilm of *Escherichia coli*. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 486-489, 2013.

NETO, H.; NOVÁK, Cs; MATOS, J. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 97, n. 1, p. 367-374, 2009.

OBODOZIE, Obiageri O. Pharmacokinetics and drug interactions of herbal medicines: A missing critical step in the phytomedicine/drug development process. **Readings in advanced pharmacokinetics-Theory, Methods and Applications**, 2012.

OMER, M. E. F. A.; ELNIMA, E. I. Antimicrobial activity of *Ximenia Americana*. **Fitoterapia**, v. 74, p. 122-126, 2003.

RIBEIRO, D. A.; MACÊDO, D. G.; OLIVEIRA, L. G. S.; SARAIVA, M. E.; OLIVEIRA, S. F.; SOUZA, M. M. A.; MENEZES, I. R. A. Potencial terapêutico e uso

de plantas medicinais em uma área de Caatinga no estado do Ceará, nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 16, n. 4, p. 912-930, 2014.

SHOBHEN, Rathod; PATEL, N. M.; PATEL, P. M. A review on modification of analytical techniques in herbal research. **International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy**, v. 2, n. 5, 2011.

SIDDAIAH, M.; VEERA, K. J.; RAO, P. M.; REDDY, K. Y.; CHETTY, C. M. Screening of *Ximenia americana* L. for its anti-inflammatory activity. **Research And Education In Indian Medicine**, v. 18, n. 1, p. 51-54, 2012..

SILVA, K. M. A.; CHAVES, T. P.; SANTOS, R. L.; BRANDAO, D. O.; FERNANDES, F. H. A.; JÚNIOR, F. J. D. L. R.; SANTOS, V. L.; FELISMINO, D. C.; MEDEIROS, A. C. D. Modulation of the erythromycin resistance in *Staphylococcus aureus* by ethanolic extracts of *Ximenia americana* L and *Schinopsis brasiliensis* Engl. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 14, n. 2, p. 92-98, 2015.

SILVA, M. S. P.; BRANDAO, D. O.; CHAVES, T. P.; FORMIGA FILHO, A. L.; COSTA, E. M. M. D. B.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. Study bioprospecting of medicinal plant extracts of the semiarid northeast: contribution to the control of oral microorganisms. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, 2012.

SORO, T. Y.; ZAHOU, O. S.; NÉNÉ-BI, A. S.; TRAORÉ, F. Antipyretic activity of the fractions of the aqueous extract of *Ximenia americana* (Linnaeus)(Olacaceae). **International Journal of Pharmacology & Toxicology**, v. 5, n. 2, p. 104-108, 2015

SORO, Tianga Yaya; TRAORE, F.; SAKANDE, J. Analgesical activity of the aqueous extract of *Ximenia americana* L. (Olacaceae). **C. R. Biologies**, v. 332, p. 371-377, 2009.

SPELLBERG, Brad; BARTLETT, John G.; GILBERT, David N. The future of antibiotics and resistance. **New England Journal of Medicine**, v. 368, n. 4, p. 299-302, 2013.

THACKER, Philip A. Alternatives to antibiotics as growth promoters for use in swine production: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 4, n. 35, p. 1-12, 2013.

TIȚA, B.; FULIAȘ, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TIȚA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 56, n. 2, p. 221-227, 2011.

TOMASSETTI, M.; CATALANI, A.; ROSSI, V.; VECCHIO, S. Thermal analysis study of the interactions between acetaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 37, n. 5, p. 949-955, 2005.

VAN VUUREN, Sandy; VILJOEN, Alvaro. Plant-based antimicrobial studies—methods and approaches to study the interaction between natural products. **Planta Medica - Natural Products and Medicinal Plant Research**, v. 77, n. 11, p. 1168, 2011.

VASHIST, Hemraj; JINDAL, Anil. Antimicrobial activities of medicinal plants—review. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 3, n. 1, p. 222-230, 2012.

YUNES, Rosendo A.; PEDROSA, Rozangela Curi; CECHINEL FILHO, Valdir. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.