

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

Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas  
farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto  
seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L.  
(Euphorbiaceae)

Tatiane Pereira de Souza

Porto Alegre, 2004

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

Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas  
farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto  
seco por aspensão de *Phyllanthus niruri* L.  
(Euphorbiaceae)

Tese apresentada por Tatiane Pereira de Souza  
para obtenção do grau de Doutor em Ciências  
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Tit. Dr. Pedro Ros Petrovick

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 25 de março de 2004, perante a Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Airton Monza da Silveira  
Universidade Luterana do Brasil

Prof<sup>a</sup>. Dr. Grace Gosmann  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares  
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof<sup>a</sup>. Dr. Valquíria Linck Bassani  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

#### CATÁLOGO NA PUBLICAÇÃO

S892d

Souza, Tatiane Pereira de

Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) / Tatiane Pereira de Souza – Porto Alegre: UFRGS, 2004. – 284 p.: xxviii: 65 tab.: 49 fig.:

Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Tecnologia Farmacêutica. 2. *Phyllanthus niruri* : produto seco por aspersão. 3. Quebra-pedra. 4. Euphorbiaceae. 5. Compressão. 6. Granulação. I. Petrovick, Pedro Ros. II. Título.

CDU: 615.453.4

Bibliotecária Responsável:

Margarida Maria C. F. Ferreira – CRB 10/480

Trabalho reprografado com o auxílio da PROENS/PROPG/UFRGS  
Impressão realizada pela Gráfica da UFRGS

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Desenvolvimento Galênico do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da UFRGS, com suporte financeiro e bolsa de pesquisa concedida pelo CNPq e, no Laboratório de Tecnologia Farmacéutica da Facultad de Farmácia na Universidad de Santiago de Compostela – Espanha, inserido no Programa CAPES/ PDEE – Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior.

*À Cirene, Manoel, Vina e Agostinho Jr.  
pelo incentivo, paciência e  
companheirismo durante toda essa  
jornada*

## APRESENTAÇÃO

O presente trabalho teve por objetivo geral o desenvolvimento de comprimidos contendo alto teor produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*. Para atingir esta meta foram estudados diferentes vias de obtenção de comprimidos, ou seja, compressão direta e granulação por via seca e por via úmida.

A fim de proporcionar ao leitor uma melhor exposição do tema, o trabalho foi dividido em seis capítulos, resumidamente descritos abaixo:

Capítulo 1 – revisão da literatura, cuja finalidade é de situar o leitor sobre os assuntos tratados, bem como, importância e possíveis dificuldades encontradas no desenvolvimento do trabalho;

Capítulo 2 – caracterização da matéria-prima vegetal, condição primária e essencial para a elaboração de uma forma farmacêutica;

Capítulo 3 – desenvolvimento e validação do método analítico utilizado para o controle de qualidade tanto da matéria-prima como de produtos derivados;

Capítulo 4 – elaboração do produto seco por aspersão e estudos de granulação, a fim de verificar qual a forma mais viável, tecnologicamente, para elaboração de comprimidos;

Capítulo 5 – desenvolvimento dos comprimidos. Neste capítulo estão descritos os estudos de compactação realizados com o produto seco por aspersão na forma de pó e granulado, a fim de obter comprimidos;

Capítulo 6 – estudo de revestimento pelicular de comprimidos contendo alto teor de produtos seco por aspersão.

Com exceção dos capítulos 1 e 2 os demais foram elaborados na forma de manuscritos visando submetê-los a periódicos especializados.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Pedro Ros Petrovick pela orientação, incentivo e exemplo profissional.

Ao Professor Dr. Ramón Martínez Pacheco que possibilitou a realização de parte do trabalho experimental e pelos ensinamentos durante o intercâmbio. Aos professores da Universidade de Santiago de Compostela, em especial, Dr. José Luiz Gómez Amoza, Dra. Consuelo Souto Pardo e Dra. Mariana Landín pela disponibilidade e atenção dedicada.

Aos professores do Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Dr. George González Ortega, Dra. Valquíria Linck Bassani e Dr. Paulo Mayorga pelos ensinamentos, atenção, apoio e contribuição para meu crescimento profissional.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em especial a professora Ana Bergold pela amizade, estímulo e contribuições científicas.

Aos Funcionários da Faculdade de Farmácia da UFRGS, especialmente a Alice, Patrícia, Dejanira, Zuleica, Cláudia, Heloísa, Margarida, Maribete, Marquinhos, Norma e Sirley, pela disponibilidade e ajuda técnica.

A todos os Colegas deste Programa de Pós-Graduação pelo companheirismo e amizade.

Aos Colegas do Departamento de Tecnologia Farmacêutica da Universidade de Santiago de Compostela em especial para Ana Gomez pela amizade e apoio dedicado.

Em especial para Edison Carvalho por ter viabilizado minha ida à Espanha e me recebido calorosamente.

Aos amigos de laboratório em especial, Leticia Koester, Luiz Alberto, Kellen, Andréa Adams, Adréa Diniz, Francilene da Silva, Angélica, Cabral, Daniel, Valéria, Sheila, Cristiane Rauber, Vanessa, Inara, Letícia Andrighetti, Eduardo Agnes, Iguatinã, Gisele e Maribete, pela auxílio, solidariedade e compreensão nos momentos difíceis. As bolsistas de iniciação científica, em particular para Maria Lionço e Bárbara Spaniol pela ajuda no trabalho experimental.

De forma especial aos Primos: Sônia e João Paulo, Aline e Lillian pelo apoio dedicado.

Carinhosamente à Cristina, Elisa, Edison e Angela por terem convivido comigo na Espanha.

Gratamente aos meus pais, tia, irmã, cunhado e sobrinhos pelo amor, carinho, e apoio incondicional dedicado em todas as etapas da minha vida.

Ao Agostinho Jr. e sua família, pelo companheirismo e incentivo em todos os momentos difíceis.

Ao CNPq e CAPES pelo apoio financeiro sem o qual não seria possível a realização desse trabalho.

## SUMÁRIO

Lista de figuras.....	xv
Lista de tabelas.....	xix
Resumo.....	xxv
Abstract.....	xxvii
Introdução geral.....	01
<b>CAPÍTULO 1: Revisão da literatura.....</b>	<b>07</b>
1. Controle de Qualidade de Matéria-Prima Vegetal.....	09
2. Material vegetal.....	11
2.1 <i>Phyllanthus niruri</i> .....	11
2.2 Estudos Botânicos.....	12
2.3 Estudos Agronômicos.....	14
2.4 Estudos Fitoquímicos.....	14
2.5 Estudos Farmacológicos.....	16
2.6 Estudos Toxicológicos.....	21
2.7 Outras Atividades.....	22
2.8 Estudos Tecnológicos.....	22
3. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para polifenóis.....	24
4. Extratos secos vegetais.....	28
4.1 Compressão de extratos secos vegetais.....	31
5. Revestimento pelicular.....	35
<b>CAPÍTULO 2: Caracterização da Matéria-Prima Vegetal.....</b>	<b>43</b>
1. Introdução.....	45
2. Materiais e Métodos.....	47



2.1 Materiais.....	47
2.2 Metodologia.....	49
3. Resultados e Discussão.....	59
3.1 Tratamento e caracterização da droga vegetal.....	59
3.2 Caracterização da solução extrativa (SE) de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	72
4. Conclusão .....	77
5. Referências .....	79
Anexos .....	83

CAPÍTULO 3: Validação de Método por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para Doseamento de polifenóis da Matéria-Prima Vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	87
---	----

Introdução .....	89
------------------	----

Publicação: Validation of a LC method for the analysis of phenolic compounds from aqueous extract of <i>Phyllanthus niruri</i> aerial parts .....	91
---	----

Manuscrito: Validação de método de cromatografia líquida para análise de compostos fenólicos presentes no produto seco por aspersão (PSA) de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	99
--	----

CAPÍTULO 4: Obtenção de produto seco por aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> em escala semi-industrial e desenvolvimento de granulados a partir desse produto .....	111
---	-----

Introdução .....	115
------------------	-----

Manuscrito: Obtenção de Produto Seco por Aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> em Escala Semi-Industrial .....	117
--	-----

Manuscrito: Desenvolvimento de granulados a partir de produto seco por aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	143
--	-----

CAPÍTULO 5: Estudo para obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	163
Introdução .....	165
Manuscrito: Compressional Behavior of Formulations from <i>Phyllanthus Niruri</i> Spray Dried Extract .....	167
Manuscrito: Eudragit E as excipient for the production of granulates and tablets containing a high load of a spray dried <i>Phyllanthus niruri</i> L. extract ..	185
Manuscrito: Otimização para o desenvolvimento de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão (PSA) de <i>Phyllanthus niruri</i> L na forma granulada.....	205
CAPÍTULO 6: Revestimento de comprimidos contendo Produto Seco Por Aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	227
Introdução.....	229
Manuscrito: Avaliação de comprimidos revestidos por película contendo alta concentração de extrato seco vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	231
Considerações Finais .....	253
Conclusões.....	261
Bibliografia Geral .....	265
Biografia.....	281
Pareceres .....	285

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1: aspecto geral de <i>Phyllanthus niruri</i> L. – Euphorbiaceae.....	12
Figura 1.2: principais justificativas para o revestimento de comprimidos .....	35
Figura 1.3: mecanismo de formação do filme de revestimento.....	37
Figura 1.4: fórmula estrutural do Eudragit® .....	39
Figura 2.1: perda por dessecação do material vegetal durante a operação de secagem.....	60
Figura 2.2: perda por dessecação da matéria-prima vegetal durante armazenagem .....	62
Figura 2.3: histograma da distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal <i>Phyllanthus niruri</i> .....	63
Figura 2.4: distribuição granulométrica dos diferentes lotes de matéria-prima vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	66
Figura 2.5: cromatograma de soluções extrativas aquosas de <i>P. niruri</i> . Sistema eluente: acetato de etila:acetona:ácido acético:água.....	68
Figura 2.6: cromatograma da soluções extrativas aquosas de <i>P. niruri</i> . Sistema eluente: ácido acético 10 %.....	69
Figura 2.7: cromatograma de solução extrativa aquosa de <i>P. niruri</i> . Sistema eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água.....	69
Figura A: curvas de retenção e passagem de matéria-prima vegetal de <i>P. niruri</i>	85
Figura 3.1: perfil cromatográfico do produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> . .....	105
Figura 3.2: curvas de calibração dos picos presentes no PSA de <i>P. niruri</i> .....	107
Figura 4.1.1: perfil cromatográfico da SE de <i>Phyllanthus niruri</i> submetida à temperatura ambiente e a 70 °C após 3h, após 6 h e após 24 h..	125

Figura 4.1.2: comportamento das substâncias majoritárias presentes na SE de <i>Phyllanthus niruri</i> , durante ensaio de estabilidade à temperatura ambiente e após 3 h, 6 h, e 20 h frente à temperatura de 70 °C ....	126
Figura 4.1.3: teor de umidade residual no PSA durante armazenamento .....	129
Figura 4.1.4: fotomicrografia eletrônica de varredura do PSA .....	130
Figura 4.1.5: fotomicrografia eletrônica da varredura de PSA .....	130
Figura 4.1.6: histograma de distribuição granulométrica do produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> .....	131
Figura 4.1.7: curva de distribuição granulométrica do PSA de <i>P. niruri</i> .....	132
Figura 4.1.8: representação gráfica do escoamento do PSA de <i>P. niruri</i> .....	135
Figura 4.1.9: carga microbiana da droga vegetal e de produtos derivados de <i>P. niruri</i> .....	136
Figura 4.1.10: isotermas de sorção do produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> em ambiente de atmosfera controlada com umidade relativa de 34 % e 65 % .....	137
Figura 4.2.1: distribuição granulométrica dos granulados de PSA de <i>P. niruri</i> ....	153
Figura 4.2.2: gráfico de Heckel .....	157
Figura 4.2.3: aumento de massa dos produtos quando armazenados em ambiente com umidade relativa de 69 % .....	158
Figure 5.1.1: microphotographic of spray dry extract and formulations .....	177
Figure 5.1.2: surface response of tablets disintegration time .....	180
Figure 5.2.1: electronic microphotography of the spray dried extract and granulates containing 2.5 %, 5 % and 10 % of Eudragit E .....	193

Figure 5.2.2: weight increase of the spray dried extract of <i>Phyllanthus niruri</i> , granulates containing 2.5 %, 5 % and 10 % of Eudragit E and tablets containing granulate with 10 % of Eudragit E when stored at 25 °C and at relative humidity of 69 %.....	194
Figure 5.2.3: dissolution profile of the tablets in accordance the compression force.....	196
Figure 5.2.4: response surface plot of percentage of release of spray dried extract in 60 minutes.....	196
Figure 5.2.5: response surface plot of tensile strength of the tablets.....	197
Figure 5.2.6: response surface of friability of the tablets.....	198
Figure 5.2.7: release profile of tablets containing only spray dried extract tablets containing spray dried extract plus Eudragit E before and after stored at 25 °C and relative humidity of 33 % or 69 %.....	200
Figura 5.3.1: gráfico de contornos para a resistência corrigido dos comprimidos	214
Figura 5.3.2: superfície de reposta e gráfico de contorno para o tempo de desintegração dos comprimidos.....	215
Figura 5.3.3: superfície de respostas e gráfico de contornos para REC dos comprimidos.....	217
Figura 5.3.4: superfície de respostas e gráfico de contornos da friabilidade dos comprimidos.....	218
Figura 5.3.5: superfície de respostas e gráfico de contornos para o tempo de desintegração dos comprimidos.....	219
Figura 5.3.6: sorção de água pelo PSA, granulado e comprimido otimizado em ambiente com temperatura de 25 °C e 69 % de umidade relativa..	221
Figura 5.3.7: cedência dos comprimidos otimizados antes e após ensaio de estabilidade.....	222

Figura 6.1: equipamento de bancada para revestimento de comprimido .....	237
Figura 6.2: perfil de dissolução do PSA a partir de comprimidos sem e com revestimento .....	242
Figura 6.3: sorção de água dos produtos em ambiente com UR de 65 % e UR de 75 % .....	244
Figura 6.4: dureza dos comprimidos em diferentes condições de armazenamento .....	245
Figura 6.5: tempo de desintegração dos comprimidos.....	246
Figura 6.6: cedência de PSA a partir dos comprimidos sem revestimento e revestidos .....	247

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: limites máximos de contaminação microbiana em produtos de origem vegetal para droga vegetal e produtos derivados.....	11
Tabela 1.2: características morfológicas e anatômicas das espécies <i>Phyllanthus niruri</i> e <i>P. tenellus</i> .....	13
Tabela 1.3: substâncias químicas isoladas e atividades biológicas atribuídas à espécie <i>Phyllanthus niruri</i> .....	15
Tabela 1.4: etnofarmacologia do <i>Phyllanthus niruri</i> .....	17
Tabela 1.5: pedidos de patente relacionados com a espécie vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	24
Tabela 1.6: sistemas empregados em CLAE para análise de polifenóis em extrativos vegetais.....	26
Tabela 1.7: componentes de formulações para revestimento pelicular.....	38
Tabela 1.8: tipos de Eudragit.....	39
Tabela 2.1: sistemas cromatográficos utilizados para a caracterização da solução extrativa.....	51
Tabela 2.2: perda por dessecação do material vegetal recebido.....	59
Tabela 2.3: perda por dessecação da droga vegetal após secagem em estufa, antes da operação de moagem.....	61
Tabela 2.4: análise comparativa entre perda por dessecação da matéria-prima vegetal após moagem.....	61
Tabela 2.5: granulometrias médias de matérias-primas vegetais de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	64
Tabela 2.6: sugestão de especificação para a distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	65

Tabela 2.7: teor de extrativos em diferentes lotes de matéria-prima vegetal.....	66
Tabela 2.8: teor de flavonóides totais na matéria-prima vegetal .....	71
Tabela 2.9: contagem de microrganismos viáveis na espécie vegetal <i>Phyllanthus niruri</i> segundo .....	72
Tabela 2.10: análise de pH de soluções extrativas de <i>P. niruri</i> .....	72
Tabela 2.11: resíduo seco das soluções extrativas de <i>P. niruri</i> .....	73
Tabela 2.12: resultados de teor de flavonóides totais em solução extrativa de <i>P. niruri</i> .....	73
Tabela 2.13: comparação entre o teor de polifenóis em soluções extrativas procedentes de dois lotes de droga vegetal de diferente procedência.....	74
Tabela A: perda por dessecação da matéria-prima vegetal durante armazenagem.....	83
Tabela B: distribuição granulométrica ponderal da matéria-prima vegetal de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	83
Tabela C: distribuição granulométrica ponderal das folhas moídas de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	83
Tabela D: distribuição granulométrica ponderal dos ramos moídos de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	83
Tabela 3.1: parâmetros de linearidade para substâncias presentes no produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> .....	106
Tabela 3.2: repetibilidade e precisão intermediária do PSA de <i>P. niruri</i> .....	107
Tabela 3.3: resultado do ensaio de exatidão do ácido gálico .....	108
Tabela 3.4: teor de polifenóis presente na solução extrativa e produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> .....	109



Tabela 4.1.1: condições da operação de secagem por aspersão.....	121
Tabela 4.1.2: comparação entre os resíduos secos da SE obtida em diferentes escalas de produção.....	126
Tabela 4.1.3: comparação dos valores de perda por dessecação do PSA de <i>P. niruri</i> obtido em diferentes torres de secagem por aspersão .....	128
Tabela 4.1.4: diâmetro médio de partícula e desvio padrão granulométrico de PSA de <i>Phyllanthus niruri</i> obtidos em diferentes equipamentos.....	133
Tabela 4.1.5: parâmetros de empacotamento de produtos secos por aspersão de <i>P. niruri</i> .....	134
Tabela 4.1.6: resultado de comportamento e velocidade de fluxo do PSA de <i>P. niruri</i> .....	135
Tabela 4.2.1: composição ponderal das formulações para obtenção dos granulados .....	148
Tabela 4.2.2: caracterização dos compactos.....	152
Tabela 4.2.3: rendimento da operação de granulação .....	153
Tabela 4.2.4: características tecnológicas do produto seco por aspersão de <i>P. niruri</i> .....	154
Tabela 4.2.5: parâmetros de compactação dos granulados obtidos por via seca	154
Tabela 4.2.6: teor de polifenóis presentes em um grama de produto seco por aspersão e de granulados obtidos por via seca .....	155
Tabela 4.2.7: parâmetros de compactação dos granulados obtidos por via úmida .....	155
Tabela 4.2.8: teor de polifenóis presentes em um grama de PSA e de granulados obtidos por via úmida.....	156

Tabela 4.2.9: parâmetros de física de compressão calculados para o produto seco por aspersão, granulado seco e granulados obtidos via úmida .....	157
Table 5.1.1: factors and levels for the qualitative factorial design .....	171
Table 5.1.2: factors and levels for the 2 x 3 Factorial Design .....	172
Table 5.1.3: real density and compressional proprieties of <i>P. niruri</i> spray dried extract and tablet formulations .....	175
Table 5.1.4: mechanical characteristics of tablets .....	176
Table 5.1.5: main effect and interaction of factors on tensile strength and disintegration time of the tablets .....	178
Table 5.1.6: characteristics of tablets from 2 X 3 factorial design.....	179
Table 5.2.1: description of the studied formulations and compression conditions	190
Table 5.2.2: measured characteristics of granulates .....	193
Table 5.2.3: technological characteristics of the tablets .....	195
Table 5.2.4: properties of the tablets before and after the exposure to different relative humidity (mean value $\pm$ standard deviation).....	199
Tabela 5.3.1: matriz do desenho composto central .....	210
Tabela 5.3.2: matriz de desenho fatorial $3^2$ .....	211
Tabela 5.3.3: critérios para validação dos modelos matemáticos.....	212
Tabela 5.3.4: características dos comprimidos obtidos através do desenho composto central.....	213
Tabela 5.3.5: características dos comprimidos obtidas seguindo desenho fatorial $3^2$ .....	216

Tabela 5.3.6: resultados da resistência corrigida, friabilidade e tempo de desintegração previstos através de equações matemáticas para comprimidos obtidos com força de compressão de 8000 N.....	220
Tabela 5.3.7: características dos comprimidos otimizados.....	221
Tabela 5.3.8: características mecânicas dos comprimidos antes e após armazenamento em ambiente com temperatura de 25 °C e umidade relativa de 69 %.....	222
Tabela 6.1: formulação da suspensão de revestimento.....	236
Tabela 6.2: condições de operação de revestimento empregadas na obtenção de comprimidos revestidos por película de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	238
Tabela 6.3: características dos comprimidos antes e após o revestimento.....	241
Tabela 6.4: fator de similaridade (f2) entre os comprimidos.....	246
Tabela 6.5: doseamento dos marcadores químicos presentes no produto seco por aspersão de <i>Phyllanthus niruri</i> .....	248

## RESUMO

**Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae).**

*Phyllanthus niruri* é largamente utilizada na medicina tradicional, principalmente, para o tratamento de cálculos renais. Estudos farmacológicos comprovam sua eficácia e segurança terapêutica, sugerindo os polifenóis, presentes na sua constituição química, como possíveis responsáveis por esta atividade biológica. Estes dados concedem a esta espécie qualidades favoráveis para o planejamento de um medicamento fitoterápico. Nesse sentido, foi inicialmente ideada uma forma farmacêutica sólida. Para tanto foi desenvolvido e validado um método analítico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) visando ao controle de qualidade da matéria – prima vegetal, produtos derivados e finais. O sistema cromatográfico foi capaz de separar satisfatoriamente três substâncias, uma das quais foi identificada como ácido gálico. Para as demais, os dados espectroscópicos no UV sugerem ser uma flavona e um derivado do ácido gálico. O produto seco por aspersão (PSA) foi obtido em torre de secagem semi-industrial, dotada de aspersor rotatório. Entretanto, o produto apresentou elevada sensibilidade à umidade atmosférica, dificultando a elaboração de comprimidos contendo alto teor desse material. Ambas as técnicas de granulação estudadas, por via seca e por via úmida, originaram granulados com satisfatórias propriedades reológicas e bom rendimento operacional. A granulação por via úmida, devido à alta solubilidade do PSA, só foi possível com emprego de solventes orgânicos. Neste caso, a resina acrílica, Eudragit E, foi utilizada com a finalidade de agente aglutinante e proteção do PSA contra a umidade atmosférica. A avaliação do comportamento dos granulados frente às diferentes umidades ambientais demonstrou que os obtidos por via úmida, contendo Eudragit E na proporção igual ou superior a 5 %, foram menos sensíveis à umidade, principalmente quando comparados com o PSA e granulados obtidos por via seca. No entanto, sua compressão causou retardo na cedência do PSA. O comportamento compressional do PSA e dos granulados, avaliados através do modelo de Heckel, mostrou que ambos apresentaram comportamento essencialmente plástico, com exceção do granulado obtido por via seca que mostrou simultaneamente

comportamento plástico e fragmentativo. O estudo de compressão com o PSA, como pó e granulado, foi realizado visando à obtenção de comprimidos com alto teor de PSA e características tecnológicas de alta resistência mecânica, rápido tempo de desintegração e baixa sensibilidade à umidade. A granulação por via seca pareceu reunir maiores vantagens em relação ao processamento tecnológico. Os comprimidos obtidos por essa via, continuaram apresentando elevada sensibilidade à umidade. Assim, a viabilidade de revestimento pelicular dos comprimidos, utilizando Eudragit E como filmógeno, foi analisada. O estudo evidenciou resultados promissores, uma vez que a película de revestimento permitiu uma sorção de umidade mais lenta, conduzindo a um melhor comportamento do produto quando armazenado em ambiente de elevada umidade relativa, sem alteração significativa da cedência dos marcadores químicos.

**UNITERMOS:** *Phyllanthus niruri*, produto seco por aspersão, polifenóis, granulação, compressão, Eudragit E, revestimento pelicular

## ABSTRACT

### **Technological development and optimization of solid dosage forms containing high amount of spray dried extract of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae)**

The *Phyllanthus niruri* is largely used in the folk medicine, mainly to treat kidney stones. Pharmacological studies confirm its therapeutic efficacy and safety, suggesting the phenolic compounds, present in its chemical constitution as probable responsible for this biological activity. These facts ascribe to this plant favorable proprieties to design a phytotherapeutic drug. Initially was planned a solid dosage form. To quality control purpose of the plant raw material, derivatives and final products was developed and validated an analytical method by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The chromatographic system was capable to separate three substances. One of them was identified as gallic acid, and the others, the UV spectroscopic data suggested a flavone and a gallic acid derivate. The spray dried extract (SDE) was elaborated using a semi-industrial spray dryer equipment with rotatory atomizer. The SDE showed high sensibility to atmospheric humidity, which makes difficult the elaboration of tablets containing high amount of this material. Both granulation techniques studied, by dry or wet ways, generated granulates with adequate rheological properties and valid operational result. The wet granulation, due to the high SDE solubility, only was possible using organic solvents. In this case, the acrylic resin Eudragit E was used as binder agent and protection against the atmospheric moisture. The evaluation of granulate behavior in the ambient with different relative humidity showed that those obtained by wet granulation, containing Eudragit E at equal or superior proportion to 5 % were less sensible to humidity, mainly when compared to SDE and dry granulates. However the compression of wet granulates caused delay in the SDE release. The compressional behavior of SDE and the wet granulates, evaluated by Heckel's plot, indicated a plastic behavior, while dry granulates showed, simultaneously, fragmentative and plastic one. The SDE compression study, as powder and granulate, was done aiming to obtain tablets with high amount of SDE and technological characteristics of high tensile strength, short disintegration time and low sensibility to humidity. The dry granulation seemed to fulfill more advantage to the technological process. However, all tablets demonstrated high sensibility to humidity. Therefore, film coated tablets, using

Eudragit E as polymeric film former, evidenced promising results allowing a slower wet sorption and leading to a better product behavior when stored at relative high wet place.

**KEYWORDS:** *Phyllanthus niruri*, spray dried extract, phenolic compounds, granulation, compression, Eudragit E, film coated.

INTRODUÇÃO GERAL

---



A população mundial apresenta uma tendência crescente à utilização de agentes terapêuticos de origem vegetal. O aprimoramento do nível científico em relação às plantas medicinais, associados aos precedentes históricos das mesmas, como fonte para o tratamento de doenças, favorece e estimula as pesquisas no campo da fitoterapia (BOYD, 1996). Sendo assim, o uso de plantas medicinais e produtos dessas derivados, desde que baseado em evidências válidas, é recomendado pela Organização Mundial de Saúde (AKERELE, 1985; PETROVICK e col., 1997).

O desenvolvimento galênico de fitoterápicos tem como objetivo a obtenção de formas farmacêuticas com preservação e valorização do potencial terapêutico do vegetal (BASSANI, 1990). No desenvolvimento de um produto de origem vegetal com fins terapêuticos, um dos requisitos fundamentais para assegurar a qualidade é o estabelecimento de métodos analíticos validados, para controle tanto da matéria-prima vegetal quanto de produtos tecnológicos intermediários e finais. Desse modo, é imprescindível um controle analítico rigoroso em todas as etapas tecnológicas de transformação do vegetal para uma forma farmacêutica final (BONATI, 1991; WORLD, 1998).

No Brasil, a resolução mais recente sobre fitoterápicos, a RDC nº 48/2004, normatiza o registro de medicamentos fitoterápicos junto ao Sistema de Vigilância Sanitária. Segundo esta resolução, entre os vários requisitos necessários para o registro de um fitoterápico, destacam-se especificações sobre a qualidade da matéria-prima vegetal, comprovação da eficácia e segurança, relatório descritivo de fabricação com especificações das operações e métodos utilizados, bem como de metodologia analítica para o controle de qualidade em todas as etapas do processo. Na ausência de uma metodologia química, o controle de qualidade deverá ser baseado na ação farmacológica preconizada (BRASIL, 2004).

*Phyllanthus niruri*, conhecido popularmente como quebra-pedra ou erva-pombinha, é uma espécie com ampla distribuição pelos países tropicais e subtropicais, sendo suas partes aéreas muito utilizadas como infuso, principalmente, para eliminação de cálculos renais (SIMÕES e col., 1995). Esta espécie vegetal

apresenta na literatura uma ampla revisão sobre sua constituição química e ação farmacológica (CALIXTO e col., 1998), mostrando ser uma planta medicinal que reúne propriedades adequadas a um processamento tecnológico visando à elaboração de uma forma farmacêutica final. A monografia do *Phyllanthus niruri* encontra-se em consulta pública para o 5º fascículo da Farmacopéia brasileira (F. Bras., 2003).

Nesse sentido, o Laboratório de Desenvolvimento Galênico do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul iniciou os estudos tecnológicos para esta espécie vegetal com SOARES (1997) padronizando soluções extrativas e desenvolvendo um produto seco por aspersão.

Os extratos secos, quando comparados aos demais extratos, apresentam manipulação mais simples, com melhor estabilidade, melhor homogeneidade e distribuição dos constituintes da preparação, conferindo à forma final maior garantia da dose empregada (LIST e SCHIMDT, 1989; SIMÕES e col., 2003). Além disso, podem ser considerados como produtos finais ou intermediários na preparação de comprimidos, cápsulas, granulados, pomadas e outras formas farmacêuticas (GAUDY e col., 1991; DE SOUZA e col., 2000; COUTO, 2000 ).

Entre as técnicas de secagem empregadas na preparação de produtos secos, a secagem por aspersão tem sido empregada com sucesso na indústria de fitoterápicos, principalmente, pelas boas características físicas, químicas e tecnológicas que conferem ao produto final, possibilitando a preparação de produtos pulverêos com características bem definidas, como tamanho e forma de partículas (MASTERS, 1978; BRODHEAD e col., 1992; DE SOUZA e col., 2000). No entanto, os extratos secos por aspersão não exibem propriedades reológicas e de compressibilidade apropriadas, além de elevada higroscopia e necessidade de alta dosagem, exigindo a adição de adjuvantes farmacêuticos com a finalidade de melhorar suas características. Esses por sua vez, influem diretamente nas características tecnológicas dos produtos obtidos (LIBERMAN e col., 1989; RENOUX e col., 1996; DE SOUZA, 1999; VOIGT, 2000).

A literatura registra poucos trabalhos sobre compressão de extratos secos vegetais (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; VENNAT e col., 1993; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995; PETROVICK e col., 1995; RENOUX e col., 1996; LINDEN e col., 2000; DE SOUZA e col., 2000, COUTO e col., 2000, SOARES e col., 2003).

A grande maioria dos estudos com extratos secos vegetais versam sobre a avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos na tentativa de obter formulações adequadas à compressão. No entanto, grande parte deles evidencia a dificuldade da obtenção de comprimidos pela técnica de compressão direta, sendo sugerido a granulação por via seca como o processo mais adequado (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986, DE SOUZA, 1999, COUTO e col., 2000; SOARES e col., 2003).

Uma outra característica que dificulta a transformação dos extratos secos vegetais em uma forma farmacêutica é sua elevada higroscopia, comportamento este que, segundo SCHILLER e colaboradores (2000), pode estar relacionado ao conteúdo de açúcares e ácidos orgânicos, geralmente, presentes em grandes quantidades nas soluções extrativas. Assim, evidencia-se a necessidade de estudos sobre a viabilidade de revestimento dos comprimidos, como medida para reduzir a higroscopia e aumentar a estabilidade dos mesmos (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; PLAIZIER-VERCAMMEN e col., 1991; PERÉZ, 1995; DE SOUZA, 1999).

A problemática, no estudo de revestimento de comprimido de extratos secos vegetais destinados a liberação imediata, baseia-se em encontrar um filmógeno cuja única função seja proteção contra alterações ambientais, uma vez que os polímeros de revestimentos podem ocasionar interações indesejáveis, bem como dificultar a liberação do produto da forma farmacêutica (PERÉZ, 1995, SCHMID e col., 2000).

Sendo assim, os objetivos desse trabalho são:

1. Desenvolver e validar uma metodologia analítica para o controle de qualidade da matéria – prima vegetal *Phyllanthus niruri* e produtos derivados;

2. Elaborar e caracterizar tecnologicamente um produto seco por aspersão de *P. niruri* utilizando equipamento semi-industrial;

3. Realizar estudos de granulação, por via seca e úmida, com o produto seco por aspersão;

4. Avaliar a influência de diferentes adjuvantes farmacêuticos na compressão direta do produto seco por aspersão;

5. Verificar a viabilidade de obtenção de comprimidos a partir de granulados de produto seco por aspersão utilizando Eudragit E como agente aglutinante;

6. Otimizar comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão na forma de granulado seco;

7. Avaliar a viabilidade de obtenção de comprimidos revestidos com película de Eudragit E, bem como a estudar a estabilidade física em ambientes com temperatura e umidade relativa controlada.



## 1. Controle de qualidade de matéria-prima vegetal

O uso de plantas medicinais para a cura ou alívio dos mais variados males está em contínua expansão ao nível mundial em razão de diversos fatores, tais como, o surgimento de novas doenças sem tratamento apropriado e a crença, ainda vigente, de que medicamentos a base de plantas são inócuos, principalmente, quando comparados com fármacos convencionais (SCHENKEL e col., 1985, CAPASSO e col., 2000). Esta última justificativa apesar de inverossímil, considerando o potencial tóxico de algumas espécies medicinais, favorece o consumo indiscriminado de produtos a base de plantas gerando grandes riscos a saúde (FARIAS e col., 1985; CALIXTO, 2000, MENGUE e col., 2001).

Em uma tentativa de diminuir as distorções, usos equivocados e, principalmente, a comercialização irracional de produtos de origem vegetal uma série de resoluções foram estabelecidas, em nível mundial, no sentido de desenvolver critérios científicos e métodos de comprovação da segurança e eficácia dos produtos de origem vegetal (WORLD, 1998).

O desenvolvimento de um fitoterápico, assim como todo o medicamento, requer um rigoroso controle de qualidade desde o momento de seu planejamento contemplando, também, todas as etapas de produção, a fim de garantir eficácia e segurança terapêutica. A constituição química de produtos de origem vegetal, bem como as características da matéria-prima, depende tanto de fatores agrônômicos, cultivo, época de colheita e condições climáticas, como de fatores tecnológicos, relacionados ao processamento empregado na transformação de uma droga vegetal em uma forma farmacêutica final, o que dificulta a definição de parâmetros de qualidade, podendo estes variar de acordo com a origem do vegetal (MAGALHÃES, 1997; LIST e SCHMDT, 1989; BAST e col., 2002; FARIAS, 2003).

Apesar das dificuldades, há um consenso mundial da necessidade de se estabelecer métodos e parâmetros que permitam avaliar a qualidade dos fitoterápicos, e sendo assim, várias diretrizes relacionadas às boas práticas agrônômicas e de controle de qualidade de produtos de origem vegetal vêm sendo publicadas (WORLD, 1996, 1998; FDA, 2000). O protocolo de avaliação de uma

matéria-prima vegetal, além de uma rigorosa identificação botânica, deve incluir técnicas de avaliação físico-químicas, tais como, a determinação do teor de umidade, teor de extrativos, ensaios de pureza, para identificação de metais pesados, bem como avaliação qualitativa e quantitativa da constituição química da matéria-prima e análise microbiológica (WORLD, 1998). Todos esses ensaios além de garantirem a qualidade favorecem a elaboração e padronização de produtos derivados (FARIAS, 2003).

Os problemas mais frequentes da comercialização de produtos vegetais estão relacionados com a substituição da droga, adulteração e não uniformidade da composição química (FARIAS e col., 1985). ZUCCOLOTO e col. (1999) apontaram a substituição da droga vegetal, contaminação microbiológica, presença de produtos de degradação e ausência de constituintes químicos, como principais causas de rejeição da qualidade de produtos fitoterápicos comercializados em uma cidade específica no Brasil.

A identificação e a quantificação química de produtos vegetais constitui um outro problema, pois apesar da existência de modernas técnicas de análise química, o controle de qualidade analítico fica dificultado ou mesmo inviabilizado em razão da complexidade química presente no vegetal, onde as substâncias ativas, quando identificadas, geralmente, encontram-se presentes em pequenas concentrações, obrigando a utilização de outras substâncias existentes em maiores quantidades, como marcadores químicos, que nem sempre participam da atividade terapêutica (CALIXTO, 2000; BAST e col., 2002).

O controle microbiológico realizado na matéria-prima vegetal é um ensaio imprescindível para garantir a qualidade de produtos derivados de plantas medicinais, pois a presença de microrganismos, além de representar riscos ao usuário do medicamento, pode interferir na estabilidade do produto (WORLD, 1998; CZECH e col., 2001). As drogas vegetais, devido à própria origem, estão sujeitas à contaminação por microrganismos oriundos do solo e da água, ou introduzidas durante o seu manuseio, porém, através de processos de extração a quente, para a preparação de soluções extrativas, podem-se obter produtos com reduzida carga microbiana. Entretanto, dependendo do grau de contaminação inicial da droga vegetal

esse processo pode não ser efetivo (ARAÚJO e OHARA, 2000; MARTINS e col., 2001).

A Organização Mundial de Saúde estabeleceu os limites máximos de aceitação de microrganismos para produtos de origem vegetal, considerando limites para a droga vegetal e produtos derivados para uso interno (tabela 1).

Tabela 1: limites máximos de contaminação microbiana em produtos de origem vegetal para droga vegetal (A) e produtos derivados (B) (WORLD, 1998).

Microrganismos	Limite máximo (UFC/g)	
	A	B
Aeróbios	$10^7$	$10^5$
Fungos e leveduras	$10^4$	$10^3$

UFC = unidade formadora de colônia

## 2. Material vegetal

As evidências para o uso de uma espécie vegetal com fins medicinais, bem como transformação da mesma em um medicamento podem ser apoiadas em uma variedade de dados, tais como uso tradicional documentado, estudos experimentais, ensaios pré-clínicos e clínicos.

O uso tradicional fornece informações sobre os benefícios da espécie vegetal, bem como tipo de preparação e forma de tratamento (ELISABETSKY e DE SOUZA, 2003). Dados sobre a constituição química são importantes para a identificação de possíveis substâncias ativas, o entendimento de prováveis mecanismos de ação, assim como, o reconhecimento de constituintes tóxicos. Por sua vez, estudos experimentais e epidemiológicos servem para comprovação da eficácia e segurança terapêutica. Estes conjuntos de dados e informações podem ser úteis na comprovação da eficácia do fitoterápico e na identificação de possíveis reações adversas (BAST e col., 2002).

### 2.1 *Phyllanthus niruri*

*Phyllanthus niruri* L. – *Euphorbiaceae* destaca-se entre as espécies do gênero *Phyllanthus* como uma das mais largamente usadas na medicina popular, fato este, provavelmente relacionado a sua ampla distribuição tanto em países tropicais como subtropicais (CALIXTO e col., 1998) (figura 1).





Figura 1: aspecto geral de *Phyllanthus niruri* L. - Euphorbiaceae

No Brasil, a espécie é conhecida popularmente como quebra-pedra ou erva-pombinha, sendo suas partes aéreas utilizadas sob a forma de infuso ou decocto, visando, principalmente, auxílio na eliminação de cálculos renais (urolitíase) (SIMÕES e col., 1995). Outras indicações populares incluem ação no tratamento de nefrites, cistites, pielites, hepatite do tipo B, afecções renais e urinárias, malária, febre tifóide, desordens menstruais, albuminúria e verminoses (PIO CORRÊA, 1969; MATOS, 1989; UNANDER e col., 1991; SIMÕES e col., 1995).

A comissão permanente de revisão da Farmacopéia Brasileira, na monografia proposta para o quinto fascículo da farmacopéia brasileira, descreve a droga como sendo proveniente de duas subespécies de *Phyllanthus niruri*, a saber: *P. niruri* ssp. *niruri* L. e *P. niruri* ssp. *lathyroides* (Kunth) G.L. Webster (F. Bras. IV, 2003).

### 2.1.1 Estudos botânicos

*Phyllanthus niruri* L. é uma espécie nativa da América, de distribuição cosmopolita, ocorrendo no Brasil do Norte até o Sul. O gênero *Phyllanthus* reúne cerca de 550 espécies distribuídas em 10 subgêneros e 50 seções (WEBSTER, 1970; UNANDER e col., 1990).

Este gênero apresenta algumas espécies muito semelhantes entre si e a literatura fornece poucos elementos que assegurem inequivocamente a identidade do vegetal, possibilitando sua substituição por outras espécies vegetais, entre as

quais *Phyllanthus urinaria* e *Phyllanthus amarus*, bem como, *Phyllanthus niruri* e *Phyllanthus tenellus* assemelhadas botanicamente e popularmente utilizadas com o mesmo objetivo (WEBSTER, 1970; UNANDER e col., 1991).

Segundo AMAT e colaboradores (1991), apesar da grande semelhança, entre as espécies *P. niruri* e *P. tenellus*, estas podem ser diferenciadas através de características morfológicas e anatômicas (tabela 2).

Tabela 2: características morfológicas e anatômicas das espécies *Phyllanthus niruri* e *P. tenellus* (AMAT e col., 1991, F. Bras., 2003)

Exomorfológicos	<i>P. niruri</i>	<i>P. tenellus</i>
Folhas	forma: oblonga - elípticas ápice: atenuado base: assimétrico	forma: elíptica ápice: obtuso base: aguda
Estipulas	número: 2 (desiguais) forma: triangular lanceolada ápice: longo e estreitamente agudo e acicular	número: 4 postas forma: triangular ápice: arredondado
Flor masculina	diâmetro: 3,5 mm até 0,3 cm pedúnculo: 2 a 4 mm pedicelo: 0,2 cm cor: avermelhado estame: 3	diâmetro: 1 a 1,5 mm pedúnculo: 1 mm cor: verde estame: 5
Flor feminina	diâmetro: 5 mm até 0,4 cm pedúnculo: 4 a 5 mm pedicelo: 0,1 a 0,4 cm cor: avermelhado estilo: ereto	diâmetro: 1,1 mm pedúnculo: até 4 mm cor: verde estilo: preso ao ovário
Fruto	diâmetro: 4 mm altura: 1,5 a 2 mm	diâmetro: 2 mm altura: 1 mm
Semente	longitude: 1,5 mm latitude: 1,5 mm	longitude: 2 mm latitude: 1 mm
Pólen	perprolado	esférico
anatômicos		
folhas	hipostomática	anfistomática
caule	colênquima: laminar, 1 - estratificado parênquima: conteúdo lipídico paredes celulares delgada medula: abundantes grãos de amido	colênquima: laminar, 1a 2 estratificado parênquima: sem conteúdo paredes celulares grossas medula: abundantes grãos de amido

Visando contribuir com estudos de caracterização botânica de espécies do gênero *Phyllanthus*, ULYSSÉA (1993) realizou um trabalho detalhado de descrição e identificação morfológica de várias espécies encontradas na região de Santa

Catarina, destacando as flores e as sementes do *P. niruri* como elementos chaves para diferenciação botânica entre as espécies.

### 2.2.2 Estudos agronômicos

A garantia de qualidade de um produto fitoterápico inicia com a padronização dos procedimentos ligados ao cultivo do vegetal, desde o plantio e coleta até os passos posteriores como, secagem, estabilização, armazenamento e transporte. A produção em larga escala requer o fornecimento de matéria-prima vegetal em grandes quantidades, evidenciando que o cultivo de espécies vegetais com atividade terapêutica comprovada é de grande importância tanto para a produção abundante e homogênea da matéria-prima como para a preservação da espécie e da biodiversidade (IKUTA, 1993, REIS e col., 2003).

Os estudos agronômicos realizados com o *P. niruri* demonstram que a propagação é feita através de sementes. O desenvolvimento vegetativo é contínuo, isto é, são plantas anuais de ciclo curto, que florescem após 30 a 60 dias no campo. Plantas novas se desenvolvem, continuamente, em grande número, formando touceiras do vegetal, o que dificulta estabelecer o momento ideal de colheita (MAGALHÃES, 1997).

O Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agronômicas (CQPBA/UNICAMP/SP) tem estudado esta espécie vegetal com a finalidade de estabelecer parâmetros agrícolas que possibilitem o cultivo em escala comercial. A pesquisa inclui observações sobre germinação de sementes, pragas, doenças, capacidade de rebrota, proporção de matéria fresca/seca e insetos visitantes (MONTANARI JUNIOR, 2000). Estudos da propagação *in vitro* também têm sido de interesse dos pesquisadores (ISHIMARU e col., 1992).

### 2.2.3 Estudos fitoquímicos

A espécie *P. niruri* tem sido muito estudada fitoquimicamente, sendo relatados na literatura o isolamento e a identificação de vários compostos orgânicos, destacando-se os alcalóides, benzenóides, cumarinas, flavonóides, lignanas, lipídios, fitalatos, esteróides, taninos e triterpenos. No entanto, muitos desses compostos permanecem estruturalmente desconhecidos, ainda não sendo possível

atribuir quais as substâncias responsáveis pelas ações farmacológicas referenciadas no uso terapêutico (FREIRE e COSTA, 1980; CALIXTO e col., 1998). A tabela 3 contém um resumo das principais substâncias isoladas dessa espécie vegetal.

Tabela 3: substâncias químicas isoladas e atividades biológicas atribuídas à espécie *Phyllanthus niruri*

Substância	Extração	Atividade	Bibliografia
campferol – 4 – ramnopiranosídeo; eriodictiol – 7 – ramnopiranosídeo	Maceração etanólica a quente, 15 dias (raízes)		CHAUHAN e col., 1977
ácido gálico; ácido elágico e geranina	Etanol 70 % a quente (todo vegetal)	inibidora da aldose redutase; inibidora da ECA*, antialérgica e analgésica	UENO e col., 1988
nirurisídeo	metanol (folhas)	inibidora da HIV-1 transcriptase reversa	QUIANCUTRONE e col., 1996
ácido gálico, epicatequina, galocatequina; -epigalocatequina, epiatequina 3-O-galato e epigalocatequina 3-O-galato	Cultura de tecidos (raízes)		ISHIMARU e col., 1992
nirurina	Éter de petróleo e etanol (partes aéreas)		GUPTA e AHMED, 1984
4-metóxi-securinina e 4-metóxi-nor-securinina	Clorofórmio e metanol (todo vegetal)		MULCHANDAN e HASSARAJANI, 1984
filantina, hipofilantina, nirtetralina e nirantina	Hexano e metanol seguido de fracionamento (partes aéreas)	inibidora da [I-125]-ET-1 ligados a ET(A) recobinante humano	ANJANUJULU e col., 1973; HUSSAIN e col., 1995.

\* Enzima Conversora de Angiotensina

Na revisão fitoquímica da espécie *P. niruri* verifica-se que, embora a literatura registre a presença de diferentes compostos químicos, existe uma grande dificuldade de isolamento, identificação e reprodução dos resultados. Como exemplos têm-se os estudos realizados por CALIXTO e colaboradores (1998) e por

SOARES (1997), os quais não conseguiram evidenciar a presença de alcalóides em espécies de *P. niruri* cultivadas no Brasil.

SOARES (1997) e DA SILVA (1999) analisando, por cromatografia em camada delgada, o extrato aquoso obtido das partes aéreas de *P. niruri*, observaram uma grande variedade de polifenóis, porém não puderam confirmar a presença de rutina. A rutina é um flavonóide relatado para o extrato etanólico do vegetal (GUPTA e AHMED, 1984). Esse fato, pode ser explicado pela variação química de acordo com as condições ambientais e geográficas nas quais a espécie foi cultivada e ou pela baixa concentração dos compostos presentes no vegetal (CALIXTO e col., 1998).

Observa-se na literatura que a maioria dos estudos fitoquímicos são realizados com extratos metanólicos e etanólicos do vegetal, encontrando-se poucos registros sobre a constituição química do extrato aquoso, forma sob a qual é utilizado popularmente.

#### **2.2.4 Estudos farmacológicos**

##### *Etnofarmacologia*

A espécie *Phyllanthus niruri* é, dentro do gênero *Phyllanthus*, a mais utilizada na medicina popular (CALIXTO e col., 1998). Etnofarmacologicamente sua utilização terapêutica é devida, principalmente, aos efeitos no tratamento de infecções geniturinárias, porém outras ações também são atribuídas a produtos derivados deste vegetal, como contra o vírus da hepatite B e no tratamento da diabetes (CALIXTO e col., 1998).

Na tabela 4 estão descritos, resumidamente, os principais usos populares desta espécie vegetal.

Tabela 4: etnofarmacologia do *Phyllanthus niruri* (ROSS, 1999)

País/Região	Extrato – parte utilizada	Aplicação
África	Infusão – partes aéreas	diurético
Brasil	decocção – raízes decocção – sementes infusão – folhas	icterícia diabetes doenças renais
Guiana Francesa	infusão – folhas	colagoga
Haiti	infusão - folhas	febre, indigestão e espasmolítico
Índia	decocção – partes aéreas suco – planta fresca infusão – planta inteira	diarréia, icterícia doenças genito-urinárias diabetes, doenças urinárias
Irlanda	decocção – raízes e folhas	doenças venéreas
Malásia	infusão - folhas	emenagoga
México	infusão - folhas	emético
Peru	infusão – planta inteira	doenças renais
Filipinas	decocção – planta inteira	emenagoga
Porto Rico	infusão - folhas	febre
Sudão	infusão - folhas	analgésico
Tailândia	infusão – planta inteira	antipirético, diurético e antiinflamatório.

#### Atividade Farmacológica - Ensaios Pré-Clínicos e Clínicos

MELO e colaboradores (1991) relataram que o infuso das folhas de *P. niruri* ocasionou uma redução do crescimento de cálculos renais induzidos experimentalmente em ratos, o que foi atribuído ao aumento da diurese, confirmando o uso popular desta espécie na urolitíase.

CAMPOS e SCHOR (1999) investigaram os efeitos *in vitro* do infuso aquoso 5 % (m/V), obtido a partir de todas as partes de *P. niruri*, em um modelo de endocitose de cristais de oxalato de cálcio por células renais caninas. O extrato apresentou um potente efeito inibitório da internalização dos cristais de oxalato de cálcio. Apesar do mecanismo de ação ainda não ter sido elucidado, as suposições sobre o efeito foram mudanças no metabolismo de cálcio ou inibição da proteína quinase C por ação dos taninos presentes no extrato aquoso, uma vez que taninos isolados de *P. amarus* mostraram-se potentes inibidores de várias quinases, inclusive da quinase C (POLYA e col., 1995). Esse estudo mostrou, também, que o extrato aquoso não ocasionou alterações bioquímicas e danos celulares, nem mesmo quando doses de 500 e 1000 µg/ml foram testadas.

FREITAS e colaboradores (2002) avaliaram o efeito crônico do infuso aquoso 5 % (m/V), preparado a partir de todo o vegetal e administrado oralmente (1,25 mg/ml/dia), em inibidores urinários de cristalização de oxalato de cálcio e de fatores associados com formação de cálculo renal. O modelo utilizado foi a urolitíase induzida através da introdução de sementes de oxalato de cálcio na bexiga de ratos machos *Wistar* adultos. Os resultados demonstraram que o tratamento dos ratos com extrato de *P. niruri* causou grande inibição no crescimento da matriz de cálculo e redução dos cálculos satélites, além disso, dos 22 animais tratados 3 eliminaram ou dissolveram, por completo, os cálculos. Os autores concluíram que o extrato aquoso de *P. niruri* tem um efeito inibitório no crescimento de cristais de oxalato de cálcio sendo independente de mudanças na excreção urinária de citrato e magnésio, a qual não foi afetada pelo extrato, mas podendo estar relacionada com a indução de uma maior incorporação de glicosaminoglicanos nos cálculos.

SANTOS (1990) realizou estudo experimental em ratos com o modelo de cálculo vesical por oxalato de cálcio e verificou que o grupo de ratos que recebeu a infusão das partes aéreas *P. niruri*, após 42 dias de experimento, apresentou elevação do volume urinário, dos níveis de creatinina e do sódio urinários, além de redução do crescimento do cálculo vesical. O autor acredita que, de modo geral, os resultados obtidos reforçam a possibilidade de que as substâncias presentes no infuso tenham ação através do aumento de prováveis inibidores da litogênese.

TONA e colaboradores (1999), estudando a atividade antimalárica de vinte extratos vegetais, observaram que o extrato, obtido por da maceração de *Phyllanthus niruri*, planta inteira, com etanol e diclorometano, apresentou eficiência na inibição do crescimento do parasita *Plasmodium falciparum*. O ensaio *in vitro* demonstrou que o extrato de diclorometano apresentou 100 e 81,7 % de inibição no crescimento de *P. falciparum* nas concentrações de 600 a 6 µg/ml, respectivamente. Enquanto que, o extrato alcóolico, nas mesmas concentrações, mostrou uma inibição de 100 e 64 %, respectivamente.

QUIAN-CUTRONE e colaboradores (1996), estudando o extrato metanólico das folhas do vegetal, obtido sob refluxo, isolaram uma substância chamada de

nirurisídeo que se mostrou um específico inibidor da enzima HIV-1 transcriptase reversa.

HUSSAIN e colaboradores (1995) atribuíram às lignanas hipofilatina e nirtetralina um potente efeito antagonista do peptídeo vasoconstritor endotelina, cujas características sugerem envolvimento no processo de hipertensão. Essas lignanas agiram seletivamente, inibindo a ligação dos agentes ativadores da endotelina, impedindo assim um dos mecanismos da hipertensão.

UENO e colaboradores (1988) também relataram ação anti-hipertensiva do *P. niruri*, ao constatarem que extratos obtidos a partir desse vegetal, planta inteira, elaborados com diferentes solventes sob aquecimento, são eficazes na inibição da enzima conversora da angiotensina. Os extratos testados apresentaram a seguinte ordem crescente de inibição hexano < clorofórmio < aquoso < etanol 70 % < n-butanol. Os autores avaliaram, também, a atividade do ácido gálico, ácido elágico e da geranina, isolados do extrato etanólico do vegetal e, concluíram que, embora todos tenham atividade, a geranina é a mais eficaz.

Outra ação farmacológica estudada para *P. niruri* é a atividade hepatoprotetora. PRAKASH e colaboradores (1995), avaliando a ação do extrato etanólico da planta inteira, de *P. niruri*; *P. urinaria* e *P. simples*, obtido através da extração exaustiva em soxhlet, em células hepáticas de ratos, concluíram que apenas *P. niruri* e *P. urinaria* possuem ação hepatoprotetora, sendo que, embora ambos tenham efeito dose dependente, a ação do *P. niruri* é superior à do *P. urinaria*. A maior atividade do extrato etanólico de *P. niruri* é atribuída à presença de flavonóides, lignanas (filantina) e compostos acíclicos, sendo a ausência de um ou mais desses componentes, em especial da filantina, os quais poderiam ser ativos, a justificativa para a ausência de atividade do *P. simples* e diminuída ação do *P. urinaria*.

SANTOS e colaboradores (1995) estudaram o efeito analgésico do extrato hidroalcoólico da planta inteira, obtido por maceração por um período de 15 dias, de quatro espécies de *Phyllanthus*: *P. urinaria*, *P. tenellus*, *P. niruri* e *P. sellowianus*, e concluíram que todos exibiram uma potente ação analgésica em ratos, tanto administrados intraperitonealmente como oralmente. Segundo MIGUEL e



colaboradores (1996), a ação analgésica pode ser atribuída aos elagitaninos presentes nestas espécies, pois, avaliando a ação da geranina e furosina isoladas de *P. sellowianus* em constrições abdominais induzidas por ácido acético em ratos, observaram que estas substâncias possuem uma ação analgésica superior a fármacos como o ácido acetilsalicílico e o paracetamol.

Ainda visando o entendimento do mecanismo antinociceptivo causado pelos extratos hidroalcológicos de *Phyllanthus*, SANTOS e colaboradores (1995b) estudaram os efeitos analgésicos produzidos por macerados hidroalcológicos de *P. urinaria* e ou *P. niruri*, planta inteira, sobre dois modelos de dor, formalina e capsaicina, em ratos, bem como, o comportamento destes frente a alguns antagonistas dos mecanismos de analgesia. Os autores concluíram que os extratos testados exibiram potente atividade analgésica, nos dois modelos avaliados. Os extratos apresentaram atividade tanto por via intraperitoneal quanto por via oral, sendo, no entanto, menos potentes por esta última via. Quanto testados no modelo da dor induzida por capsaicina, os extratos (10 a 30 mg/kg) mostraram, por via i.p., inibição de 69 e 61 % para *P. urinaria* e *P. niruri*, respectivamente. Por via oral, foram ativos apenas nas doses de 25 a 200 mg/kg apresentando grau de inibição de 68 e 75 % para *P. urinaria* e *P. niruri*, respectivamente. Quanto ao mecanismo de ação dos extratos, segundo os modelos de antagonismo testados, parece não estar relacionado a receptores opióides, síntese de prostaglandinas, liberação de glicocorticóides nem com a interação com receptores adrenérgicos e serotoninérgicos, assim como não estar envolvido com modelos ligados à arginina ou ao óxido nítrico, uma vez que nenhum desses modelos foram capazes de antagonizar a ação analgésica dos extratos. Segundo os autores, a atividade analgésica no modelo da dor induzida por capsaicina sugere que os compostos ativos presentes nos extratos podem agir através de interação com as taxininas.

VENKATESWARAN e colaboradores (1987) estudaram o efeito *in vitro* e *in vivo* de um extrato aquoso de *Phyllanthus niruri*, preparado por decocção da planta inteira, sobre o vírus da hepatite B. Os estudos *in vitro* demonstram que o extrato foi capaz de inibir a atividade da enzima DNA polimerase do vírus da hepatite B, onde a inibição foi diretamente proporcional à concentração do extrato. A dose de 600 µl/ml promoveu uma inibição de 82 %, além disso, impediu a reação antígeno-anticorpo

(HBsAg-Anti-HBs). Os ensaios *in vivo* foram realizados através da administração do extrato por via intra-peritoneal (i.p.) e subcutânea, usando como modelo animal marmotas (*Marmota monax*), as quais, quando infectadas pelo vírus da hepatite, apresentam respostas patológicas semelhantes ao ser humano. Os autores concluíram que o extrato aquoso de *P. niruri*, quando administrado por via i.p., provoca uma significativa diminuição dos níveis séricos do antígeno da hepatite, no entanto, quando administrado por via subcutânea não se mostrou eficaz. Os resultados demonstraram que o extrato aquoso inibiu a replicação do vírus da hepatite e diminuiu os efeitos patológicos sobre o fígado dos animais.

Estudo realizado por KHANNA e colaboradores (2002) atribuiu atividade hipolipêmica ao macerado aquoso de *Phyllanthus niruri*. Segundo os autores, a espécie vegetal é capaz de inibir a biossíntese de colesterol hepático, aumentar o catabolismo das lipoproteínas de baixa densidade, ativar as enzimas lecitina-colesterol acetiltransferase e lipases teciduais. Assim, tais efeitos podem contribuir para ação hepatoprotetora do *P. niruri*.

Ensaio clínico realizado por SANTOS (1990) através da utilização de um decocto aquoso das partes aéreas de *Phyllanthus niruri*, administrado na dose de 20g/500ml/dia, por um período de 3 meses, a 10 pacientes portadores de calculose renal demonstrou que o uso do chá, quando comparado ao grupo controle, propiciou uma maior eliminação dos cálculos renais

MEIXIA e colaboradores (1995), estudando a ação de extratos *P. amarus*, *P. niruri* e *P. urinaria* em pacientes com hepatite B crônica, concluíram que, embora o extrato de *P. urinaria* tenha sido o mais potente contra o vírus da hepatite B, o extrato de *P. niruri* também se mostrou eficiente.

### **2.2.5 Estudos toxicológicos**

SANTOS (1990) realizou estudos toxicológicos, agudos e crônicos com infusos das partes aéreas *Phyllanthus niruri*, a fim de verificar a provável ocorrência de efeitos tóxicos. Para o ensaio de toxicidade aguda foram escolhidos apenas indivíduos saudáveis, sendo administradas doses crescentes do infuso (5, 10 e 15 g/200 ml/dia), enquanto que para o de toxicidade crônica foram avaliados indivíduos com

história prévia de calculose renal, sendo administradas doses de 20 g/500 ml/dia do infuso de *P. niruri*. Os parâmetros avaliados foram os resultados dos exames bioquímicos, hematológicos e cardiovasculares. No ensaio de toxicidade aguda verificou-se que as doses crescentes e sucessivas do infuso não provocaram alterações em nenhum dos parâmetros analisados, em todos os indivíduos. Apenas com a dose maior (15 g/200 ml/dia) foi observada diminuição do nível de creatinina plasmática, o que pode significar um uso benéfico do chá através da estimulação renal. Quanto ao uso crônico do infuso, os pacientes foram acompanhados por 3 meses, não sendo observado nenhum efeito toxicológico crônico, bem como modificações no volume urinário nem nos parâmetros bioquímicos e hematológicos analisados.

### 2.2.6 Outras atividades

Além de toda potencialidade terapêutica atribuída para espécie *Phyllanthus niruri*, ainda encontra-se na literatura relatos de que esta espécie vegetal tenha indícios de atividade antimicrobiana (UNANDER e col. 1991). GARCIA (2000) avaliou a atividade do extrato aquoso, frações de acetato de etila e de butanol, obtidas a partir da maceração de partes aéreas de *P. niruri*, contra germes gram-positivos e negativos, e concluiu que as frações testadas inibiram o crescimento de *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* e *Micobacterium luteus*, bem como *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*, no entanto, o extrato aquoso não se mostrou ativo contra os microrganismos citados.

### 2.2.7 Estudos tecnológicos

Estudos tecnológicos realizados com a espécie *P. niruri* são escassos, os poucos trabalhos registrados na literatura foram desenvolvidos no Laboratório de Desenvolvimento Galênico desta Instituição de ensino.

SOARES (1997) estudou a padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de um produto seco por aspersão a partir desta espécie vegetal, observando que a decocção foi à metodologia de extração a apresentar maior teor de flavonóides totais. O desenvolvimento de produtos secos por aspersão (PSA) a partir de soluções aquosas de *P. niruri* mostrou-se viável. No entanto, o produto

obtido, embora, contendo como adjuvante de secagem dióxido de silício coloidal, apresentou tendência à aglomeração e pouca estabilidade quando submetido à atmosfera controlada de 63 % de umidade relativa.

COUTO (2000) realizou estudos de compressão com o produto seco por aspersão desenvolvido segundo metodologia descrita por SOARES (1997) e concluiu que o mesmo possui deficientes propriedades de fluxo e densificação, características necessárias para a compressão direta. A autora comprovou a inviabilidade de utilização da técnica de compressão direta para produção de comprimidos de PSA de *P. niruri*, mesmo utilizando adjuvantes para melhorar as características tecnológicas da mistura de pós. Além de observar aderência de pó às ferramentas de compressão, os compactos obtidos não apresentaram características tecnológicas adequadas. A utilização de maiores concentrações de dióxido de silício coloidal, como lubrificante, não alterou o comportamento de compressão do pó. Por outro lado, a presença de estearato de magnésio foi essencial, pois diminuiu problemas de fricção na fase de ejeção dos comprimidos.

A estratégia empregada por COUTO (2000) consistiu, então, no desenvolvimento de granulados contendo alto teor de PSA de *P. niruri* por meio de granulação por via seca, a partir de compactos contendo alto teor de PSA, o que permitiu a obtenção de um produto intermediário granular com propriedades tecnológicas favoráveis à compressão, porém observou que o granulado apresentou problemas frente à umidade ambiental.

Foram encontrados sete documentos de patente relacionados com o assunto *Phyllanthus sp.*, sendo seis pedidos americanos e um de abrangência internacional (tabela 5), nenhum dos quais relata o emprego de extratos aquosos por aspersão na obtenção do produto seco. Três dos pedidos de patente incluem preparações contendo produtos derivados da espécie *Phyllanthus niruri*.

Tabela 5: pedidos de patente relacionados com o género *Phyllanthus*.

Patente	Alegação	Invento	Inventor
US 6.136.316	Produtos hepatoprotectores e para o tratamento de condições relacionadas a hepatite B e E	Produto seco composto, essencialmente por extrato de <i>Rheum emodi</i> , <i>Phyllanthus amarus</i> , <i>Eclipta alba</i> , <i>Andrographis paniculate</i> e <i>Picrorhiza kurroa</i>	MEHROTRA e col., 2000. (DABUR, 2000)
WO 00/56347	Fração enriquecida obtida de <i>P. amarus</i> e produtos derivados para o tratamento de hepatite	Fração enriquecida de <i>P. amarus</i>	PREMILA e col., 2000 (WORLD, 2000)
US 4.997.817	Filantostatina A como citostático	Filostantina A, lignana glicosídica extraída de raízes de <i>P. acuminatus</i>	PETITI, 1991 (ARIZONA, 1991)
US 4.673.575	Produto farmacêutico para o tratamento da hepatite viral	Extrato metanólico de <i>P. niruri</i> preparado com todas as partes do vegetal	VENKATESWARAN e col., 1987 (FOX, 1987)
US 4.388.457	Derivados de filantostatinas como citostático	Filantostatina 1, 2 e 3; Filantosídeo extraídos de raízes de <i>P. acuminatus</i>	PETTIT, 1983 (UNIVERSITY, 1983)
US 4.937.074	Métodos para o tratamento de infecções retrovirais	Extrato de <i>P. niruri</i> associado a outros agentes antivirais, como o AZT e DDC.	VENKATESWARAN e col., 1990 (FOX, 1990)
US 5.529.778	Produtos ayurvédico para a profilaxia e tratamento da SIDA, gripe, tuberculose e outras imunodeficiências	Dois produtos, o LIVZON - composto elaborado com extratos secos de <i>P. niruri</i> , <i>Tinospora codifolia</i> , <i>P. emblica</i> , <i>Terminalia bellerica</i> e <i>T. chebula</i> , e o IMMINEX - composto de extratos secos de <i>Holarrhena antidysenterica</i> , <i>Picrorhiza kurroa</i> e <i>Swertia chirata</i>	ROHATGI, 1996 (LEBLANC & BECKER, 1996)

### 3. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para polifenóis

Os polifenóis representam um complexo grupo de substâncias com potenciais propriedades terapêuticas (CARVALHO e col., 2003) e, como tal, recebem especial destaque na comunidade científica, que vem desenvolvendo diversos métodos analíticos visando a avaliação qualitativa e quantitativa desses compostos (ESCARPA e GONZÁLEZ, 2001).

O desenvolvimento de métodos analíticos para quantificação de polifenóis em soluções extrativas de plantas medicinais revela grandes dificuldades, principalmente, devidas à diversidade de substâncias presentes na amostra, as quais exigem alta seletividade e especificidade. A generalização da aplicação de uma técnica idealizada para um determinado analito, na maioria das vezes, é inviável. Embora o objeto de análise seja a mesma substância ou grupo químico, a origem da matriz em análise, como por exemplo, outra espécie ou até mesmo outra parte do vegetal, pode causar insucesso de sua aplicação, especialmente face à interferência dos constituintes particulares àquela amostra (CARVALHO, 1997; SOARES, 1997; DA SILVA, 1999).

ESCARPA e GONZÁLEZ (2001), comparando dois métodos analíticos para doseamento de polifenóis, especificamente taninos, em soluções extrativas vegetais, concluíram que o método espectroscópico, quando comparado à CLAE, superestimou o conteúdo polifenólico dos extratos, uma vez que os açúcares e proteínas solúveis constituem importantes interferentes na metodologia de análise.

Dessa forma, atualmente, na grande maioria dos estudos analíticos realizados com polifenóis, a CLAE tem sido a metodologia de escolha, principalmente, devido a sua versatilidade e precisão (DING e col., 1999). Colunas cromatográficas de fase reversa ( $C_{18}$  ou  $C_8$ ), conjuntamente com fases móveis compostas de acetonitrila e ou metanol em meios aquosos ácidos, associados à detecção UV/vis constituem os sistemas mais empregados. Na tabela 6 estão descritas, de forma resumida, as condições cromatográficas, apresentadas na literatura, para análise desses compostos em soluções extrativas vegetais.

Embora exista registro na literatura de vários métodos analíticos para a quantificação de polifenóis, a maioria apresenta uma série de limitações relacionadas à eficiência da separação entre os compostos. Frequentemente, os problemas estão ligados à matriz biológica, que é constituída por uma mistura complexa, contendo, além dos polifenóis, outras substâncias que coeluem e absorvem em mesmo comprimento de onda de análise. Estas podem possuir comportamento cromatográfico semelhante aos compostos de interesse e também

interferir negativamente na análise (ESCARPA e GONZÁLEZ, 2001; MILBURY, 2001).

Tabela 6: sistemas empregados em CLAE para análise de polifenóis em extrativos vegetais

Coluna	Fase móvel	Detector	referências
Nucleosil C <sub>18</sub>	A)H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 0,01 M (G) B)MeOH	UV/vis	ESCARPA e GONZÁLEZ (2001)
Kingsorb C <sub>18</sub>	CH <sub>3</sub> OH:H <sub>2</sub> O:H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (l)	UV/vis	WANG e col. (2000)
Nova-Pak C <sub>18</sub>	A)MeOH:AcOH:H <sub>2</sub> O (10:2:88 v/v) (G) B)MeOH:AcOH:H <sub>2</sub> O (90:2:8 v/v)	UV/vis fluorométrico	RODRIGUEZ-DELGADO e col. (2001)
Zorbax SB-C <sub>18</sub>	MeOH:H <sub>2</sub> O:AcOH (30:70:0,1 v/v) (l)	UV/vis	DING e col., 1999
Spherisorb ODS-2	A)ACN (G) B) AcOH 5%	UV/vis fluorométrico	VIÑAS e col., 2000
MCM-C <sub>18</sub>	A)H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 0,1 M (G) B)ACN:MeOH:H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> (10:60:30 v/v)	UV/vis	MILBURY, 2001
Hypersil C <sub>18</sub>	A)ACN: H <sub>2</sub> O:FcOOH (10:90:5 v/v) B)ACN: H <sub>2</sub> O:FcOOH (90:10:5 v/v)	UV/vis	ANDLAUER e col., 1999

G = gradiente; l = isocrático; MeOH = metanol; AcOH = ácido acético; ACN = acetonitrila; FcOOH = ácido fórmico

O tipo de coluna cromatográfica é importante fator para a eficiência de um método de análise por CLAE (CROZIER e col., 1997; CLAESSENS e col., 1998; DALLUGE e NELSON, 2000). WANG e colaboradores (2000), analisando polifenóis em soluções extrativas, avaliaram sob as mesmas condições, duas colunas, Kingsorb C<sub>18</sub> (5 µm, 150 x 4,6 mm d.i., 80 Å) e Nucleosil C<sub>18</sub> (5 µm, 150 x 4,6 mm d.i., 100 Å), ambas com mesmo tipo e grau de substituição, diferenciando-se apenas pelo tamanho de poros do recheio, observaram que, apesar de ambas mostrarem respostas semelhantes, a Kingsorb apresentou completa separação de todas as substâncias presentes nas amostras. Fato semelhante foi observado por DE SOUZA e col. (2002) que, analisando flavonóides em soluções extrativas de *Achyrocline satureioides*, verificou que a substituição da coluna cromatográfica Lichrospher C<sub>18</sub> (5 µm, 250 x 4 mm d.i., 80 Å) por uma Shimadzu C<sub>18</sub> (5 µm, 250 x 4,6 mm d.i., 80 Å), as quais diferenciam-se apenas pelo diâmetro interno da coluna, sob mesmas

condições experimentais, resultou em significativa melhora na resolução e separação dos picos.

A grande variedade de colunas de fase reversa disponível no mercado, diferencia-se quanto ao tipo de ligante, grau de substituição, tamanho, forma das partículas e porosidade do material de enchimento da coluna. Mais importante, contudo, são as propriedades relativas à polaridade da fase reversa que determinam a seletividade das mesmas (CLAESSENS e col., 1998).

Durante o desenvolvimento de um método de análise por CLAE, assim como qualquer técnica analítica, faz-se necessário planejar e executar a sua validação, para garantir que o mesmo seja exato, específico, reprodutível e resistente dentro da variação especificada na qual a substância em exame será analisada (SWARTZ e KRULL, 1997). A validação dos métodos assegura a credibilidade durante o uso rotineiro (THE UNITED, 2000).

No Brasil, após a publicação da portaria nº 6 (BRASIL, 1995), revogada pela RDC nº 17 (BRASIL, 2000), por sua vez revogada pela RDC nº 49 (BRASIL, 2004), a validação dos métodos analíticos utilizados no controle de qualidade de fitoterápicos tornou-se uma exigência legal para o registro dos mesmos. No entanto, o conjunto de experimentos a ser empregado para a validação do método depende, principalmente, da técnica utilizada e do tipo de amostra. Assim, em uma tentativa de harmonizar os requisitos para registro de medicamentos, a Conferência Internacional de Harmonização (ICH, 1996) tem elaborado diretrizes e normas para a execução de atividades de validação analítica, entre outras. As normatizações da ICH sugerem testes que devem compor um processo de validação, salientando as peculiaridades inerentes aos métodos químicos, físico-químicos e biológicos (ICH, 1996).

De forma geral, os principais testes realizados para a validação de uma metodologia analítica incluem ensaios de linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão, limites de quantificação e detecção, robustez e resistência (ICH, 1996; THE UNITED, 2000).



Com relação a matéria – prima vegetal de *Phyllanthus niruri*, há uma grande deficiência na literatura quanto aos métodos de doseamentos de seus constituintes químicos. Os poucos trabalhos encontrados na literatura referem-se a flavonóides e lignanas (ISHMARU e col., 1992; SHARMA e col., 1993). Outro trabalho registrado na literatura foi o realizado por DA SILVA (1999) que, visando ao controle de qualidade de matéria-prima vegetal e derivados, propôs-se a desenvolver e validar metodologias analíticas para quantificação de flavonóides nas partes aéreas de *P. niruri*. Os resultados demonstraram que os métodos espectrofotométricos avaliados, apesar de possuírem repetibilidade e precisão intermediária satisfatória, apresentaram erros sistemáticos, limitando as condições experimentais a faixas de trabalhos definidas. O método de quantificação desenvolvido pelo autor, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), também apresentou erros sistemáticos, ocorrendo perda da linearidade na faixa de trabalho utilizada.

A monografia do *Phyllanthus niruri*, descrita no quinto fascículo da Farmacopéia Brasileira, propõe, como método de quantificação do ácido gálico presente na matéria-prima, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando coluna cromatográfica de fase reversa C<sub>18</sub> (5 µm, 250 x 4,0 mm d.i), sistema gradiente linear com fase móvel de metanol:água:ácido trifluoracético (30:70:0,05 v/v) como solvente A e metanol:ácido trifluoracético (100:0,05 v/v) como solvente B, eluindo em fluxo de 0,5 ml/min e detecção UV/vis em 275 nm (F. Bras. IV, 2003).

#### **4. Extratos secos vegetais obtidos por *spray-drying***

Na elaboração de um fitoterápico, a preparação de soluções extrativas, contendo as substâncias químicas de interesse terapêutico, constitui uma etapa preliminar que, após a retirada da água ou solvente, conduz à obtenção de um produto intermediário, geralmente, um extrato seco. Os extratos secos vegetais são produtos intermediários que apresentam vantagens de maior estabilidade química e facilidade de armazenamento, manuseio e transporte (LIST e SCHIMIDT, 1989). O tipo e condições de secagem devem ser estabelecidos de acordo com a constituição química do material a secar, bem como com as características desejadas ao produto acabado.

A secagem de extratos vegetais contendo substâncias termolábeis exige, preferencialmente, técnicas de secagem a baixas temperaturas. A liofilização, técnica que consiste no congelamento do produto a temperaturas negativas e posterior secagem, através de sublimação do gelo, sob ação de vácuo, pode ser uma boa escolha para produtos termolábeis, no entanto, tecnologicamente, essa técnica produz pós extremamente leves, muitos volumosos e com elevada higroscopicidade o que a torna pouco utilizada na indústria de fitoterápicos (WENDEL e ÇELIK, 1998; LIST e SCHMIDT, 1989). Por outro lado, a secagem por aspersão é muito utilizada para a produção de extratos vegetais pois, apesar de ser uma técnica executada em temperaturas elevadas, entre 150 e 200 °C, o reduzido tempo de contato do produto com a fonte calorífica permite sua utilização para substâncias sensíveis ao calor, além do que origina pós com melhores características tecnológicas e passíveis da otimização através de alterações de alguns parâmetros de secagem (MASTERS, 1978; BROADHEAD e col., 1992)

A secagem por aspersão (*Spray-drying*) consiste em uma operação de secagem de soluções, suspensões, emulsões ou pastas, por divisão em finas gotículas no interior de uma câmara provida de ar quente, a fim de obter a evaporação do solvente e a recuperação de um produto seco no estado particulado. Existem várias denominações para os produtos obtidos por essa técnica, tais como, produto seco por aspersão, produto seco por nebulização e produto seco por pulverização (MASTERS, 1978, WENDEL e ÇELIK, 1998).

A secagem por aspersão é uma técnica muito utilizada nas empresas químicas, alimentícias, bioquímicas e farmacêuticas. Entre as várias razões para sua ampla utilização destacam-se a capacidade de obtenção de produtos particulados com propriedades pré-definidas, como tamanho e forma de partículas, otimização de produção possibilidade de eliminação de etapas no processo de fabricação de formulações, como granulação, revestimento e formação de complexos, além da sua aplicabilidade para materiais tanto sensíveis quanto estáveis ao aquecimento (MASTERS, 1978; BROADHEAD e col., 1992; WENDEL e ÇELIK, 1998).

A otimização das características físicas e químicas dos produtos secos, obtidos através dessa técnica, envolve a comparação entre os parâmetros do

processo, tais como aquecimento, vazão de ar, fluxo de alimentação, viscosidade, tensão superficial do produto fluido a secar, desenho, dimensão e princípio de funcionamento do dispositivo de aspersão (WAN e col., 1991; BROADHEAD e col., 1992).

A técnica de secagem por aspersão tem recebido um grande destaque no desenvolvimento de fitoterápicos, principalmente, devido à maior facilidade de obtenção de produtos com maior concentração de constituintes químicos, sem degradação e perda de atividade farmacológica e, comparada a outras técnicas de secagem, com melhores características tecnológicas (MARTINS, 1997). Além disso, os produtos secos por aspersão apresentam maior estabilidade e podem ser utilizados tanto como produto final como intermediários na produção de outras formas farmacêuticas (CASADEIBAG, 1987; LIST e SCHMIDT, 1989; DE PAULA e col., 1998).

A utilização de adjuvantes de secagem tem sido fator primordial para a otimização da operação de secagem por aspersão, pois estes atuam tanto no aumento do rendimento como no asseguramento da estabilidade do produto obtido. Vários trabalhos, utilizando diferentes adjuvantes de secagem, evidenciam a necessidade desses para otimização do rendimento, bem como para a definição e a melhoria das características tecnológicas do produto obtido (JACOB e col., 1976; CASADEIBAG, 1987; BASSANI, 1990; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995). Entre os adjuvantes de secagem que oferecem melhores perspectivas tecnológicas destacam-se o dióxido de silício coloidal e o fosfato de cálcio (BASSANI, 1990; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995).

DE SOUZA e colaboradores (2000a) utilizaram a técnica de secagem por aspersão para elaboração de um produto seco de *Passiflora edulis*. Utilizando dois adjuvantes de secagem, Aerosil® 200 e Gelita-Sol-P®, isolados e em misturas, verificaram que o produto seco por aspersão, preparado somente com Aerosil 200, foi o que apresentou melhores características tecnológicas, principalmente no que se refere ao comportamento frente à umidade.

A secagem por aspersão tem sido empregada com sucesso no Laboratório de Desenvolvimento Galênico do Programa de Pós-Graduação em Ciências

Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Essa técnica tem sido utilizada não apenas para obtenção de extratos secos vegetais mas também para o estudo de formulações, visando o aumento da estabilidade e ou a liberação controlada (SENNÁ, 1993; CAMPOS, 1996; TEIXEIRA, 1996; DE PAULA, 1997; CARVALHO, 1997; DE SOUZA, 1997; SOARES, 1997; LOPES, 1998; MÜLLER, 1999).

No entanto, a maioria dos produtos obtidos através da secagem por aspersão de extratos vegetais, mesmo utilizando adjuvantes de secagem para melhorar as características dos produtos resultantes, apresentam reduzido tamanho de partícula, baixa densidade e elevada higroscopicidade (TEIXEIRA, 1996; CARVALHO, 1997; DE SOUZA, 1999). Neste caso, o pequeno tamanho particular dos produtos obtidos, pode ser justificado pelas características do equipamento empregado, de escala de bancada, cujo bocal de aspersão, por ser do tipo bocal pneumático com 0,7 mm de diâmetro, impede a presença de altas concentrações de sólidos no produto a secar, o que contribui para o reduzido diâmetro das partículas obtidas (MASTER, 1978).

O tipo do bocal aspersor e a natureza do produto a aspergir são dois fatores com papel fundamental sobre as características do produto seco obtido. Os dispositivos de aspersão podem ser classificados em: bocais pneumáticos e discos rotores. Nos primeiros, a seleção dos diâmetros das partículas é feito pelo diâmetro interno da agulha injetora, já os discos rotores, devido ao próprio desenho, permitem que o líquido a secar seja distribuído a partir do seu centro e através da força centrífuga gera a formação de gotículas maiores, o que favorece o aumento do diâmetro de partículas do produto obtido (MASTERS, 1978; BROADHEAD e col., 1992). SOARES (2002) utilizando aparelho semi-industrial, com aspersor de disco rotor, para secagem de solução extrativa aquosa de *Phyllanthus niruri*, obteve um produto com tamanho de partícula consideravelmente maior que o produzido, em escala de bancada, com aspersor tipo agulha.

#### **4.1 Compressão de extratos secos por aspersão**

As deficientes propriedades tecnológicas dos extratos secos, associadas ao fato de que, geralmente, as substâncias ativas estão diluídas na matriz vegetal, sendo, portanto, necessárias doses elevadas de extratos secos para alcançar o

efeito farmacológico desejado, dificultam consideravelmente a operação de compactação, tornando a compressão direta praticamente impossível (LIST e SCHMIDT, 1989; PALMA e col., 1999).

No entanto, a maioria dos poucos estudos disponíveis sobre formulações de comprimidos contendo extratos secos vegetais utiliza misturas de adjuvantes e a técnica de compressão direta para a obtenção de comprimidos. Os resultados demonstram que os adjuvantes são essenciais para a obtenção dos comprimidos, influenciando diretamente nas características do produto final (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; VENNAT e col., 1993; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995; PETROVICK e col., 1995; RENOUX e col., 1996; LINDEN, 1998; DE SOUZA e col., 2000).

LINDEN e colaboradores (2000) estudaram a viabilidade de produção de comprimidos, por compressão direta, de PSA de *Passiflora edulis* produzido com fosfato de cálcio, e utilizaram o planejamento estatístico através da análise de superfície de resposta para otimizar as características farmacotécnicas das formulações estudadas. Os autores empregaram dióxido de silício coloidal (Aerosil 200) como deslizante, croscarmelose sódica (Ac-Di-Sol) como desintegrante e celulose microcristalina como material de carga/aglutinante, concluindo que a proporção de Aerosil 200 na formulação afetou positivamente a dureza dos comprimidos e que o Ac-Di-Sol, além de diminuir o tempo de desintegração, também influenciou a dureza dos comprimidos de forma dependente da concentração de Aerosil 200 presente na formulação.

PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER (1986), avaliando a influência de adjuvantes na compressão direta de extrato seco de *Harpagophytum procumbens*, observaram que, mesmo com a utilização de adjuvantes, as formulações apresentavam elevada aderência às ferramentas de compressão, dificultando a obtenção dos comprimidos. Os comprimidos obtidos apresentaram-se altamente higroscópicos, sugerindo a necessidade de um revestimento para proteção contra umidade. Fenômeno semelhante foi observado por DE SOUZA (1999) e COUTO e colaboradores (2000), na compressão direta de extrato seco por aspensão de *Maytenus ilicifolia* e *Phyllanthus niruri*, respectivamente. Os autores concluíram que,

além da higroscopicidade, os produtos compactados obtidos não apresentaram características tecnológicas adequadas para uma forma farmacêutica comprimido, mas viáveis a serem utilizados como produtos intermediários para granulação por via seca.

ROCKSLOH e colaboradores (1999) otimizaram, através de redes neurais artificiais, o tempo de desintegração de comprimidos contendo alta dosagem de extrato seco vegetal. Neste estudo, os autores, mantendo constante a concentração de extrato seco vegetal nas formulações, comparam duas técnicas de compressão, direta e com granulação prévia por via seca. Verificaram, que nos comprimidos com extrato não granulado, a redução do tempo de desintegração estava condicionada a um aumento do peso dos comprimidos. Por outro lado, os comprimidos obtidos após granulação apresentaram baixo tempo de desintegração, sendo suas características finais menos dependentes da concentração do extrato.

PLAIZIER-VERCAMMEN e colaboradores (1991), estudando a ação do Emcocel® 50 e Emcocel® 90, adjuvantes derivados da celulose microcristalina, na compressão direta de extrato seco de *Equisetum arvense*, verificaram uma grande segregação de partículas refletida na variação de peso dos comprimidos, além disso, observaram que a friabilidade e o tempo de desintegração dos mesmos dependeram tanto dos adjuvantes, como da força de compressão aplicada.

Os problemas relativos à elevada higroscopia dos extratos foram estudados por PLAIZIER-VERCAMMEN e DE NEVE (1993)<sup>1</sup> que avaliaram, comparativamente, as alterações sofridas por comprimidos placebos e outros com características similares contendo extrato seco de *Taraxacum*, submetidos a ambientes de diferentes umidades relativas (UR%). Os autores observaram que os filmes de revestimentos utilizados para proteção contra umidade mostraram eficácia somente para os placebos, pois a elevada higroscopicidade do extrato seco foi responsável pelo aumento da fragilidade dos comprimidos, em ambientes com UR% acima de 22 %.

---

<sup>1</sup> PLAIZIER – VERCAMMEN, J.A e DE NEVE, R.E. *Pharmazie*, n.48, p.441-446, 1993. *Apud* PÉREZ, L.M.D. *Diseño y evaluation de comprimidos convencionales e de cesion controlada de extratos secos (Plantago lanceolata)*. Santiago de Compostela: Universidade de Santiago de Compostela, 1995. Tese de doutorado

PERÉZ (1995), estudando o comportamento de compressão de granulados contendo polimetacrilatos, Eudragit® E e Eudragit® RS, observou que os granulados, mesmo contendo proporções reduzidas dos polímeros, apresentaram significativas melhoras em suas propriedades reológicas. Todas as formulações originaram comprimidos com adequadas propriedades mecânicas e com velocidade de dissolução dependente da proporção de polímero empregada e da força de compressão aplicada. O revestimento dos comprimidos com uma película de Eudragit E permitiu sua conservação durante 1 ano à temperatura ambiente, sem apresentarem alterações consideráveis no peso ou no conteúdo de substâncias químicas.

O emprego de altos teores de extratos secos vegetais e, em certos casos, a precária estabilidade de alguns de seus componentes, podem inviabilizar a utilização da granulação por via úmida (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; LIST e SCHMIDT, 1989; VENNAT e col., 1993). Por conseguinte, a maioria dos trabalhos indica a granulação por via seca, seguida do revestimento com película, como técnica alternativa na obtenção de produtos intermediários para a tecnologia de comprimidos contendo extratos secos vegetais (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; PLAIZIER-VERCAMMEN e col., 1991; PERÉZ, 1995; DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000).

EGGELKRAUT-GOTTANKA e col. (2002a) estudando a compressão de granulados de extratos secos obtidos a partir da erva de São João, concluiu que comprimidos que continham o extrato seco na forma granulada apresentaram tempo de desintegração cerca de três vezes menor que os comprimidos elaborados com o extrato na forma de pó. Além do que, estudos de dissolução revelaram que a hiperforina, hipericina e a rutina foram mais rapidamente liberadas dos comprimidos que continham o extrato na forma granulada. Em outro estudo, os mesmos autores verificaram que um aumento da concentração de estearato de magnésio incorporado nos granulados, como fase interna, reduz sua influência negativa no tempo de desintegração dos comprimidos mantendo, no entanto, sua função de lubrificante (EGGELKRAUT-GOTTANKA e col., 2002b).

## 5. Revestimentos peliculares de comprimidos

Os comprimidos revestidos caracterizam-se por apresentarem sua superfície recoberta por uma ou mais camadas de substâncias, entre elas, açúcares, resinas e polímeros (LE HIR, 1995).

Segundo PETROVICK (2003), entre os inúmeros motivos para revestimento de comprimidos destacam-se os apresentados na figura 2.

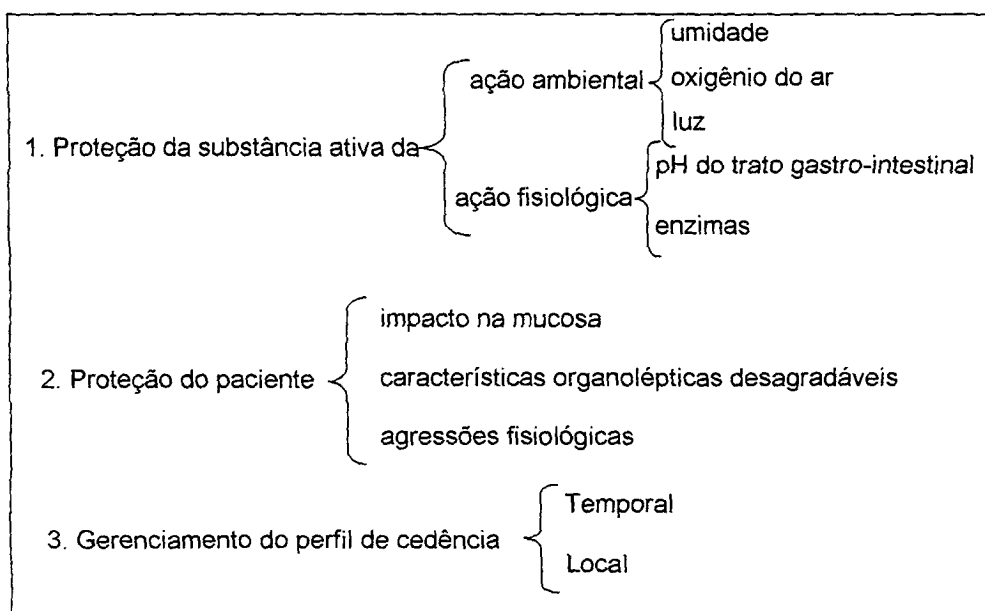


Figura 2: principais justificativas para o revestimento de comprimidos (PETROVICK, 2003)

O controle do perfil de cedência dos comprimidos está diretamente relacionado ao tipo das substâncias de revestimento utilizado (VOIGT, 2000; VILA JATO, 1997; ANSEL e col., 1999).

O processo de revestimento pode ser realizado basicamente em dois tipos de equipamentos: turbinas de revestimento e torres de leito fluidizado. A evolução tecnológica dos equipamentos tem sido no sentido de diminuição do tempo de revestimento e redução da intervenção do operador no processo, uma vez que, em



muitos casos, o processo apresenta caráter quase que artesanal (SEITZ e col., 2001).

Os comprimidos utilizados no revestimento costumam ser chamados de núcleos e sua adequabilidade ao processo depende de algumas características, tais como dureza, forma, superfície, tamanho, sensibilidade ao calor e capacidade de interação com o produto de revestimento. Contudo, devido à existência de diferentes técnicas de revestimento, as características dos núcleos variam de acordo com as exigências de cada uma (BAUER e col., 1998).

De forma geral, as características dos núcleos para o revestimento englobam a resistência à abrasão, que deve ser suficiente para suportar os movimentos de rolagem e fricção sofridos nas turbinas, bem como o impacto e atrito quando submetidos ao leito fluidizado; - a forma, sendo mais adequada a biconvexa porque permite aos núcleos rolar livremente nas turbinas com o mínimo de contato entre eles; - a superfície lisa, mas com propriedades de molhabilidade favoráveis a aderência, pois para que o revestimento adira ao comprimido os seus constituintes têm que molhar a superfície do mesmo, e por fim; - a estabilidade ao calor, uma vez que o aquecimento, necessário para evaporação do solvente, pode representar um efeito adverso aos fármacos termolábeis (BAUER e col., 1998; SEITZ e col., 2001).

O produto de revestimento consiste em uma mistura de substâncias, responsáveis pela estabilidade da estrutura da camada de envolvimento. Dependendo do material utilizado e do objetivo do processo existem, basicamente, dois tipos de revestimento, o drageamento e o pelicular, os quais exigem equipamentos apropriados e características especiais dos comprimidos.

O revestimento com açúcar, chamado de drageamento, constitui o método clássico e consiste na aplicação de várias camadas de revestimento sendo a sacarose o principal componente. O processo de drageificação inclui uma seqüência de etapas, consumindo tempo, materiais e energia. Apesar de encontrar-se em declínio, uma vez que é uma técnica morosa e praticamente manual, onde o sucesso do produto depende da habilidade do operador, ainda é bastante usada, principalmente, para melhorar a aparência e características organolépticas dos comprimidos. O processo de drageificação é realizado em turbinas de drageamento

operadas mecanicamente. A solução de revestimento é aspergida com aplicação conjunta de ar quente a fim de acelerar a secagem da cobertura (BAUER e col., 1998). Esta técnica resulta em comprimidos que podem ter o dobro do tamanho e do peso dos núcleos originais, o que do ponto de vista do paciente pode significar em uma desvantagem, pois comprimidos maiores são mais difíceis de deglutir (VILA JATO, 1997; ANSEL e col., 1999; VOIGT, 2000;).

O revestimento pelicular, técnica derivada da drageificação, ocorre pela aposição de uma fina camada de polímero, hidrossolúvel ou não, que forma uma camada contínua sobre os comprimidos. Com isto apresenta, sobre a drageificação, a vantagem de originar comprimidos de peso e forma próximos dos originais além de ser uma técnica, relativamente, simples e rápida. (BAUER e col., 1998; SEITZ e col., 2001). O mecanismo de revestimento pelicular (figura 3) consiste na evaporação rápida do solvente frente a aspersão do líquido de revestimento com subsequente incremento da concentração do polímero na superfície dos núcleos, posterior coalescência e formação do filme de revestimento.

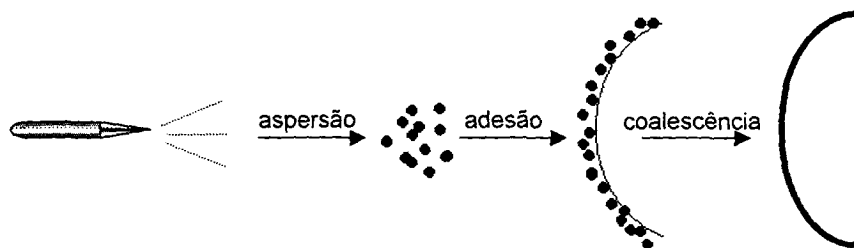


Figura 3: mecanismo de formação do filme de revestimento

As substâncias filmógenas mais empregadas, geralmente, são derivados de celulose (hipromelose, hielose), poligóis de alta massa molecular e poliacrilatos (Eudragit®). A seleção do polímero ou associação desse com coadjuvantes permite a obtenção de películas que podem ser, segundo o modo de ação desejado, insolúveis, permeáveis ou muito solúveis a um determinado pH (ALAM e PARROT, 1972, MARTINÉZ-PACHECO e col., 1988, LE HIR, 1995; VILA JATO, 1997).

Os filmógenos podem ser aplicados na forma de dispersões aquosas ou de soluções preparadas com solventes orgânicos. Os componentes de formulações típicas de revestimento pelicular, com base aquosa e não-aquosa, estão discriminados na tabela 7.

As formulações preparadas como dispersões aquosas apresentam desvantagens relacionadas à lenta evaporação do solvente e, assim, problemas resultantes da presença de umidade e do tempo de exposição à ação do calor. As formulações preparadas com solventes voláteis proporcionam procedimentos de revestimento mais rápido, mas apresentam dificuldades de trabalho devido à emissão de vapores inflamáveis (LE HIR, 1995).

Tabela 7: componentes de formulações para revestimento pelicular (ANSEL e col., 1999)

Revestimento não-aquoso		Revestimento aquoso	
Componentes	exemplo	Componentes	exemplo
Formador de película	acetofalato de butila	Formador de película	éteres de celulose
Adesivos	polietilenoglicol		
Plastificante	óleo de mamona	Plastificante	propilenoglicol
Tensoativos	polissorbatos		
Opacificantes e corantes	dióxido de titânio	Opacificantes e corantes	óxido de ferro
Flavorizantes	baunilha		
Agentes de brilho	cera de abelha		
Veículo	mistura álcool-acetona	Veículo	água

Dentre os vários filmógenos, os polimetacrilatos (Eudragit®) são bastante utilizados e apresentam algumas vantagens, destacando-se a elevada estabilidade e possibilidade de solubilidade em meio ácido ou base de acordo com o tipo de substituinte (WADE e WELLER, 1994; PETEREIT E WEISBROD, 1999; VOIGT, 2000).

Os Eudragit® são resinas acrílicas que podem ser utilizadas como filme de revestimento, dependendo da finalidade desejada existem diferentes tipos. Os Eudragit® E, por exemplo, copolímeros catiônicos do dimetilelmetacrilato e metacrilatos neutros, possuem grupos aminos terciários, fracamente básicos que, em solução ácida, formam sais, sendo solúveis em meio ácido e insolúveis em meio

básico e neutro. Os Eudragit utilizados em revestimento entérico, tipos L e S, são polímeros aniônicos derivados do ácido metacrílico apresentando o grupamento carboxila como grupo funcional, dissolvem-se em faixas de pH de 5,5 a 7,0. Os Eudragit utilizados com o objetivo de liberação prolongada, tipo RL, RS e NE, são de dois tipos, copolímeros de acrilato e metacrilato apresentando amônio quartenário como grupamento funcional, e copolímeros etilacrilato e metilmetacrilato com grupos ésteres neutros, podem ser insolúveis e ou permeáveis e o perfil de liberação pode ser determinado através da proporção de mistura dos dois polímeros, bem como da espessura ou da concentração do filme de revestimento (HOEPFNER e col., 2002).

A figura 4 e tabela 8 apresentam um resumo dos diversos tipos de Eudragit® existentes no mercado. Os do tipo Eudragit E® que possuem grupos básicos, são solúveis em suco gástrico; os do tipo Eudragit L® e S®, apresentando grupos ácidos, são utilizados em revestimentos resistentes ao suco gástrico e solúveis em meio entérico. Os Eudragit RL® e Eudragit RS® possuem grupos quaternários e são destinados a formas medicamentosas com liberação modificada da substância ativa (WADE e WELLER, 1994; VOIGT, 2000).

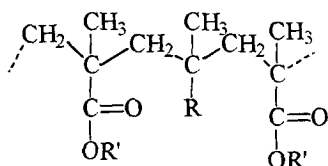


Figura 4: fórmula estrutural do Eudragit® (R' = alquila e R = ver tabela 2)

Tabela 8: tipos de Eudragit (VOIGT, 2000)

Eudragit® - Tipo	R	Característica
E12,5; E100	-CO-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	solúvel em pH 2-5; intumescce em pH 5-8
E30D	-CO-O-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	intumescce em pH 2-8 modificável
L12,5; L90	-COOH	solúvel em pH 6-8; insolúvel em pH 2- 5,5
L30D		solúvel em pH 5,5-8; insolúvel em pH 2-5
S12,5 S90		difícilmente solúvel em pH 7-8; insolúvel em pH 2-6,5
RL12,5; RL100	-CO-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -N(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> <sup>+</sup> Cl <sup>-</sup>	intumescce em pH 2-8 e facilmente permeável
RS12,5; RS100		intumescce em pH 2-8 e difícilmente permeável

Apesar de serem fracamente reativos, alguns polimetacrilatos, dependendo das propriedades físicas e do grupamento iônico, possuem algumas incompatibilidades, tais como, coagulação, através de mudanças de pH, com alguns solventes orgânicos e extremas temperaturas. Além disso, dispersões de Eudragit L 30D, RL 30D, L 100-55 e RS 30 D são incompatíveis com o estearato de magnésio (WADE e WELLER, 1994; PETEREIT E WEISBROD, 1999). No entanto, os polimetacrilatos são ainda menos passíveis de interações químicas e reações de degradação que os polímeros derivados de celulose (PETEREIT E WEISBROD, 1999). SCHMID e colaboradores (2000) observaram tendência de aglomeração durante o processo de revestimento de ibuprofeno com Aquacoat® ECD, dispersão polimérica contendo etolose. Análises de calorimetria diferencial exploratória e difração de raio-X foram utilizadas para identificar possíveis interações entre o ibuprofeno e o Aquacoat®. Os resultados mostraram que o álcool cetílico, plastificante, presente no Aquacoat®, foi responsável pela diminuição do ponto de fusão do ibuprofeno, gerando uma tendência à aglomeração entre os cristais de ibuprofeno durante o processo de revestimento. Esse estudo destaca que os adjuvantes utilizados na dispersão polimérica para revestimento podem conduzir a interações inesperadas.

As características dos filmes de revestimento determinam a forma de liberação das substâncias ativas. Pode ocorrer dissolução do revestimento através da formação de sais com o suco gástrico ou intestinal, permitindo a desintegração do comprimido e liberação da substância ativa. No entanto, no caso de revestimentos com materiais insolúveis em água, porém permeáveis, em um primeiro momento, as substâncias ativas se difundem através do revestimento pelicular pela penetração de água, o que provoca um intumescimento do comprimido gerando uma pressão interna capaz de romper o revestimento e a partir de então facilitar a completa desagregação do comprimido. Logo, utilizando revestimentos insolúveis os ensaios analíticos, geralmente, restringem-se à avaliação de perfil de liberação das substâncias ativas através do doseamento das mesmas (VOIGT, 2000).

PRIEDERRE e colaboradores (1997), analisando vários filmes de revestimento, concluíram significantes diferenças na proteção contra umidade

atmosférica e no perfil de dissolução, de acordo com a natureza do fármaco e do agente de proteção utilizado.

Poucos são os estudos de revestimento em comprimidos contendo extratos secos vegetais, o que, no entanto, apresenta-se como uma estratégia interessante na proteção contra umidade atmosférica e aumento da estabilidade. SCHMIDT e SOYKE (1992) estudaram a viabilidade de revestimento com polímeros de extratos secos de camomila (*Matricaria recutita* L.), a fim de proteger a matricina, principal componente ativo, das influências ambientais. Os polímeros utilizados foram derivados da celulose, polimetacrilatos e copolímeros. Dentre estes foram empregados polímeros de revestimentos gastro-solúveis (Eudragit-E-100®, Kollidon-VA-64®, Pharmacoat-603®, Resomere®), de revestimento entero-solúveis (Eudragit-L-100®, Aquacoat®) e filmógenos que provocam a difusão por membrana (Ethocel-7®). Através de um estudo preliminar os autores observaram que a decomposição da matricina é acelerada por polímeros contendo grupos carboxílicos, pelo contrário filmes sem esses grupamentos, particularmente de etolose (Ethocel-7®) e derivados básicos de polimetacrilato (Eudragit-E-100®), aumentam a estabilidade da matricina. O revestimento do extrato seco de camomila mostrou um aumento da meia vida da matricina em mais de 50 % em relação ao extrato não revestido.

PÉREZ (1995), estudando a estabilidade de comprimidos de extrato seco de *Plantago lanceolata* revestidos com Eudragit E-100 ® e armazenados em ambiente com umidade relativa controlada de 50 %, concluiu que, por um período de 1 ano, não houve modificação considerável dos perfis de liberação dos comprimidos, nem alteração do conteúdo de glicosídeos iridóides, considerados as substâncias ativas do extrato.

JEKŌ e colaboradores (1999) compararam diferentes filmes de revestimentos para comprimidos contendo extrato seco de sena. Entre os filmógenos testados, os mais eficazes, em aumentar a estabilidade dos comprimidos frente a alterações ambientais, foram a dispersão aquosa de etolose e a dispersão aquosa de ácido polimetacrílico, sendo a eficácia de revestimento atribuída à hidrofobicidade desses polímeros.



## 1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais e produtos derivados é recomendado pela Organização Mundial de Saúde, desde que baseado em evidências verdadeiras (AKERELE, 1985; PETROVICK e col., 1997). O aumento do interesse por medicamentos oriundos de plantas advém, principalmente, do crescimento do nível de conhecimento científico a seu respeito. Novas evidências, resultantes de pesquisas realizadas, conduziram à reavaliação das plantas medicinais e de seus produtos derivados, dando suporte à sua utilização como agentes terapêuticos válidos (BOYD, 1996, MARQUES e PETROVICK, 2003).

*Phyllanthus niruri*, conhecido popularmente como quebra-pedra, é uma espécie vegetal muito utilizada popularmente para eliminação de cálculos renais (SIMÕES e col., 1995). A literatura registra uma ampla revisão sobre sua constituição química e ação farmacológica (CALIXTO e col., 1998), apresentando propriedades adequadas a um processamento tecnológico visando a elaboração de uma forma farmacêutica final. No entanto, é uma planta pertencente a um gênero com muitas espécies semelhantes entre si, sendo muitas vezes utilizada equivocadamente (AMAT e col., 1991, UNANDER e col., 1991).

Nesse sentido, o Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, iniciou com SOARES (1997) os estudos tecnológicos para esta espécie vegetal por meio da padronização de soluções extrativas. COUTO (2000), visando a estabelecer parâmetros de qualidade utilizando técnicas de caracterização para matérias-primas vegetais, comparou e caracterizou lotes de *P. niruri* procedentes de mesmo local de plantio, porém com diferente época de coleta, verificando diferenças entre os lotes, provavelmente devidas à variação biológica dos mesmos.

Dessa forma, o presente capítulo tem como objetivo a caracterização da matéria-prima vegetal que será utilizada para o estudo de formulação de uma forma farmacêutica sólida compacta.



## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAIS

#### 2.1.1 Matéria-prima vegetal

A droga vegetal em estudo foi constituída de partes aéreas de *Phyllanthus niruri* L., adquirida da empresa distribuidora de plantas medicinais Quimer Comercial Ltda. (São Paulo). O material recebido foi previamente seco, sendo que os dados de identificação botânica e características de tratamento prévio do material foram atestados através de ficha de informações agronômicas fornecida pelo respectivo fornecedor.

#### 2.1.2 Solventes, reagentes e soluções

Todos os reagentes utilizados, a não ser que ocorra especificação contrária, apresentaram grau de pureza pró-análise.

Acetato de etila (Synth);  
acetona (Nuclear);  
acetonitrila (Ominisolv ® Merck);  
ácido acético glacial (Synth);  
ácido clorídrico (Nuclear);  
ácido fórmico (Synth);  
cloreto de alumínio hexaidratado (Merck);  
clorofórmio (Nuclear);  
éter etílico (Synth);  
hidróxido de amônio (Merck);  
iso-propanol (Nuclear);  
metanol (Nuclear);  
metenamina (LAPPS/UFRGS);  
*n*-butanol (Nuclear);

polígol 400 (Delaware);

solução de vanilina clorídrica a 1 % (m/V) F. Bras. III;

solução metanólica de cloreto férrico a 10 % (m/V) F. Bras. III;

*t*-butanol (Merck).

### 2.1.3 Substâncias de referência

ácido gálico (Merck);

ácido elágico (Merck);

ácido tânico (Merck);

catequina(Sigma);

epicatequina (Sigma);

isoquercitrina (Extrasynthèse);

quercitrina (Extrasynthèse);

sacuranetina<sup>\*</sup>;

rutina (Rothichrom).

### 2.1.4 Aparelhos, equipamentos e outros materiais

Aparelho de tamisação vibratório Retac 3 D, com tamises de acordo com a F. Bras. IV;

balança analítica Mettler PM 200 com sistema de secagem por infravermelho Mettler CP16;

compressor de ar Kohlbach 1/4 CV, modelo 56;

cromatofolhas de gel de sílica GF<sub>254</sub> e celulose microcristalina (Whatman – 254, 100 µm);

cromatógrafo líquido de alta eficiência (Shimadzu) com possibilidade de eluição em sistema gradiente, detecção no UV, injetor automático, e gerenciamento de dados externos através do *software* LC-10;

espectrofotômetro de varredura Hewlet-Packard 8452A;

misturador cúbico Erweka KM5 acoplado a motor multiuso Erweka AR 400;

moinhos de faca Retsch SKI, com abertura de malha de saída de 1 mm;

---

<sup>\*</sup> Gentilmente fornecida pelo Dr. Sérgio Bordignon e Prof. Dr. Eloir Schenkel

papel whatman nº 3

potenciômetro Digimed DM pH 2;

prensa hidráulica manual Hafico com capacidade para 5 L

purificador de água Milli-Q Plus Millipore;

## **2.2 METODOLOGIA**

### **2.2.1 Tratamento da droga e preparação da matéria-prima vegetal**

O material vegetal recebido foi selecionado manualmente, sendo separados folhas e ramos para tratamento individual. Após a seleção, as partes do vegetal foram pesadas, separadamente, e amostras retiradas para a análise da perda por dessecação (PD %). Todo o material que se encontrava com valor de PD % acima de 12 % foi rasurado manualmente e submetido à secagem em estufa de ar circulante, separadamente folhas e ramos, à temperatura de  $45\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , até estabilização da PD %. O material foi misturado, manualmente, a cada 2 horas para permitir secagem homogênea. Amostras foram retiradas da estufa a cada 24 horas para a medida da PD %.

Após a secagem, cada parte do vegetal foi submetida à moagem em moinho de facas. O material cominuído resultante foi misturado em misturador cúbico, constituindo a matéria-prima vegetal. A mistura foi realizada de modo a reconstituir as proporções ponderais de folhas e ramos recebidas dos fornecedores. O lote em estudo foi composto de 80 % de folhas e 20 % de ramos.

### **2.2.2 Caracterização da matéria-prima vegetal**

#### **2.2.2.1 Determinação da perda por dessecação (CARVALHO, 1997)**

O teor de umidade da droga vegetal e da matéria-prima vegetal foi determinado por método gravimétrico, em balança com sistema de secagem por infravermelho. Cerca de 500 mg, exatamente pesados, da amostra foram colocados em pesa-filtro, previamente tarado, e dessecados nas seguintes condições de secagem: nível de sensibilidade de 120 e temperatura de  $105\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Este ensaio foi

realizado em triplicata com intervalo de 10 min entre cada determinação, tempo necessário para o resfriamento do sistema.

### 2.2.2.2 Determinação do teor de extrativos

Cerca de 1 g, exatamente pesado, da matéria-prima vegetal foi submetido à extração com 100,0 ml de água, por decocção, durante 10 min. Após resfriamento, o volume foi reconstituído e filtrado, desprezando-se os primeiros 20 ml do filtrado. Cerca de 20 g do filtrado, exatamente, pesados foram colocados em pesa-filtro, previamente tarado, e evaporados à secura em banho de água, com agitação ocasional (BUNDESVEREINIGUNG, 1986a). Após evaporação, o pesa-filtro, contendo a amostra, foi colocado em balança com sistema de secagem por infravermelho nas seguintes condições de operação: nível de sensibilidade de 120 e temperatura de 105 °C, com intervalo de 10 min entre cada determinação. O resultado foi expresso pela média de três determinações, segundo a equação 1.

$$TE = \frac{g \times FD \times 100}{m - (m \times \frac{pd}{100})} \quad (1)$$

onde: TE = teor de extrativos (% m/m); g = massa (g) do resíduo seco, FD = fator de diluição, igual a 5; m = massa (g) da amostra inicial; pd = perda por dessecação da amostra (% m/m).

### 2.2.2.3 Análise granulométrica por tamisação (VOIGT, 2000)

Cerca de 100 g da matéria-prima vegetal, exatamente pesados, foram submetidos à passagem através de tamises, previamente tarados, com abertura de malha de 0,800; 0,630; 0,315; 0,200; 0,125 e 0,071 mm. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo durante 15 min. As frações retidas nos tamises e coletor foram pesadas e os dados analisados por método gráfico, construindo-se curvas de retenção e passagem e histograma de distribuição, a fim de se obter o diâmetro médio de partículas. Os resultados expressaram a média de três determinações.

### 2.2.2.4 Análise qualitativa de polifenóis por cromatografia de camada delgada

**Preparação da amostra:** 7,5 g da matéria-prima vegetal foram extraídos com 100,0 ml de água destilada, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento, a solução foi filtrada e reconstituída o volume inicial.

Alíquotas de 25  $\mu$ l de solução extrativa foram analisadas em sistemas cromatográficos para identificação de taninos e flavonóides. Soluções metanólicas de ácido gálico, ácido elágico, ácido tânico, catequina, epicatequina, rutina, quercitrina, isoquercitrina e sacuranetina com concentrações de 0,05 % (m/v) foram utilizadas como referências cromatográficas. Os sistemas cromatográficos desenvolvidos estão listados na tabela 1.

Tabela 1: sistemas cromatográficos utilizados para a caracterização da solução extrativa

Sistemas para identificação de flavonóides		
Sistema	Suporte	Eluente (composição - v/v)
FI	gel de sílica F <sub>254</sub>	acetato de etila:acetona:ácido acético:água (60:20:5:5)
FII	gel de sílica F <sub>254</sub>	acetato de etila:acetona:ácido fórmico:água (5:2:1:1)
FIII	gel de sílica F <sub>254</sub>	acetato de etila:ácido fórmico:iso-propanol:água (50:4:2:7) (STAHL, 1969)
FIV	gel de sílica F <sub>254</sub>	<i>n</i> -butanol:ácido acético:água (30:10:10) (WAGNER e BLADT, 1996)
FV	celulose e papel	ácido acético 15 % (MABRY e col., 1970)
Sistemas para identificação de taninos		
TI	gel de sílica F <sub>254</sub>	acetato de etila:ácido fórmico:água (95:5:5 v/v)
TII	papel	ácido acético:ácido clorídrico:água (30:3:10) (HARBONE, 1984)
TIII	papel	ácido acético 6 % (HARBONE, 1984)
Cromatografia bidimensional		
B	papel	BI) ácido acético 15 % (MABRY e col., 1970)
		BII) álcool <i>t</i> -butanol:ácido acético:água (3:1:1) (MABRY e col., 1970)

Os cromatogramas foram desenvolvidos de modo ascendente em cubas cromatográficas após saturação com o sistema eluente. As placas foram secas à temperatura ambiente e as manchas reveladas de acordo com as substâncias pesquisadas.

Para detecção das manchas obtidas nos sistemas para identificação de flavonóides (FI, FIII, FIV e FV) foram utilizadas, de forma consecutivas, solução metanólica de reagente Natural-A a 0,3 % (m/v), solução etanólica de poligol 400 a 0,5 % (v/v). A visualização foi através de luz ultravioleta em 365 nm. Para revelação do cromatograma obtido com o sistema FII foi utilizado anisaldeído sulfúrico e as manchas observadas visualmente.

Para detecção dos taninos, a placa obtida com o sistema TI foi borrifada com solução de vanilina clorídrica a 1 % e após aquecida, em estufa, a 110 °C por 10 min. A manchas obtidas nos sistema TII e TIII foram reveladas com solução metanólica de cloreto férrico a 10 % (m/v) e observadas visualmente após revelação.

Foram desenvolvidas cromatografias bidimensionais e co-cromatografia a fim garantir a presença ou ausência das substâncias pesquisadas.

#### **2.2.2.5 Análise espectrofotométrica de flavonóides totais**

*Método espectrofotométrico sem hidrólise ácida (BUNDESVEREINIGUNG, 1986b, modificado por DA SILVA, 1999) .*

Cerca de 0,4 g da matéria-prima vegetal, exatamente pesado, foi submetido à extração, sob refluxo, por 15 minutos, com 30,0 ml de água destilada. A extração foi repetida por mais duas vezes com 30,0 ml do mesmo líquido extrator. As soluções resultantes foram filtradas e reunidas em balão volumétrico de 100 ml e o volume completado com água. Essa solução constituiu a solução-mãe (SM). Alíquota de 10,0 ml da SM foi transferida para balão volumétrico de 100 ml e o volume completado com água. Separadamente, duas alíquotas de 10,0 ml desta solução foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml. Ao primeiro balão foram adicionados 2,0 ml de solução de cloreto de alumínio a 1,5 % (m/v) e o volume completado com água, constituindo a solução amostra (SA) e o segundo balão foi

completado com água, constituindo o branco da análise. A leitura foi realizada em 315 nm, 15 minutos após a adição da solução de cloreto de alumínio.

A concentração percentual de flavonóides totais foi expressa como sacuranetina, pela média de seis determinações com três repetições cada, calculada segundo a equação 2.

$$C = \frac{A \times FD}{A_{1cm}^{1\%} \times m - (m \times \frac{pd}{100})} \quad (2)$$

onde: C = concentração de flavonóides totais expressa em gramas de sacuranetina por 100 g de matéria-prima vegetal; A = absorvância da amostra (UA); FD = fator de diluição (2500); m = massa da matéria-prima vegetal (g); pd = perda por dessecação (g%);  $A_{1cm}^{1\%} = 526,25$ , coeficiente de absorção específica do complexo sacuranetina- $AlCl_3$  (DA SILVA, 1999).

*Método espectrofotométrico com hidrólise ácida (BUNDESVEREINIGUNG, 1986b, modificado por SOARES, 1997)*

Cerca de 0,4 g da matéria-prima vegetal, exatamente pesado, foi transferido para balão de fundo redondo e adicionados 1,0 ml de solução aquosa de metenamina 0,5 % (m/V), 20,0 ml de acetona e 2,0 ml de ácido clorídrico SR. A mistura foi aquecida em banho de água, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento, foi filtrada, através de pequena quantidade de algodão, para balão volumétrico de 100 ml. O resíduo da matéria-prima vegetal e o algodão foram lavados com duas porções de 20,0 ml de acetona sob aquecimento, em refluxo, durante 10 minutos. Após o resfriamento, essas soluções foram filtradas através de algodão e reunidas no balão volumétrico, completando-se o volume com acetona, originando a solução mãe (SM). Em funil de separação, 20,0 ml da solução mãe, adicionados de 20,0 ml de água, foram extraídos com 15,0 ml de acetato de etila, repetindo-se este procedimento três vezes com porções de 10,0 ml de acetato de etila. As fases acetato de etila foram reunidas em funil de separação e, após lavadas com duas porções de 50,0 ml de água, transferidas para balão volumétrico de 50 ml, completando-se o volume com acetato de etila, originando a solução estoque (SE).

Alíquota de 10,0 ml da SE foi transferida para balão volumétrico de 25 ml, adicionados 2,0 ml de solução metanólica de cloreto de alumínio a 2 % (m/v) e diluída para volume de 25,0 ml com solução metanólica de ácido acético 0,5 % (v/v) (solução amostra – SA). Paralelamente, uma alíquota de 10,0 ml da solução estoque foi diluída a 25,0 ml com solução metanólica de ácido acético 0,5 % (v/v) (solução de compensação – SC). Após 30 min da adição de cloreto de alumínio foi procedida a leitura em 420 nm da SA, utilizando, como branco, a solução de compensação.

Os resultados foram expressos em percentual de flavonóides totais, calculados como quercetina, pela média de seis determinações com três repetições cada, utilizando a equação 3.

$$C = \frac{A \times FD}{A_{1cm}^{1\%} \times m - (m \times \frac{pd}{100})} \quad (3)$$

onde: C = percentual de flavonóides totais (m/m); A = absorvância da amostra (UA); FD = fator de diluição (625); m = massa da matéria-prima vegetal (g); pd = perda por dessecação (g%);  $A_{1cm}^{1\%} = 500$ , coeficiente de absorção específica do complexo quercetina- $AlCl_3$  (SOARES, 1997).

#### 2.2.2.6 Avaliação microbiológica da droga vegetal<sup>†</sup>

A análise microbiológica foi realizada através da contagem de microorganismos viáveis totais empregando-se o método de contagem em placa conforme a F. Bras. IV.

Cerca de 5 g da matéria-prima vegetal foram dispersos em 100 ml de tampão fosfato pH 7,2. Alíquota de 10 ml da dispersão foi diluída a 100 ml com água peptonada. Após 1 hora de descanso, 200  $\mu$ l da solução foram esgotados em placa de Petry contendo 20 ml de meio de cultura ágar caseína-soja, para identificação de bactérias, e incubado durante quatro dias na temperatura de 30 a 35 °C. O mesmo procedimento foi repetido utilizando meio de cultura ágar Sabouraud-dextrose, para

<sup>†</sup>Agradecimentos ao Professor Dr. José Carlos Germani, e ao Mestre Marcos Marquard, pelo auxílio na realização da análise microbiológica.



fungos e leveduras, sendo incubado por sete dias na temperatura de 20 a 25 °C. As contagens foram realizadas após incubação.

### **2.2.3 Preparação da solução extrativa**

A solução extrativa foi preparada seguindo metodologia desenvolvida por SOARES (1997), que consta da decocção sob refluxo, da matéria-prima vegetal, por 15 min com uma proporção droga:solvente de 7,5:100 (m/v).

#### **2.2.3.1 Caracterização da solução extrativa**

##### **2.2.3.1.1 Determinação do pH (F. Bras. IV)**

O pH foi determinado utilizando 10 ml solução extrativa, em potenciômetro, previamente calibrado. O resultado foi expresso pela média de seis determinações.

##### **2.2.3.1.2 Determinação da densidade relativa (F. Bras. IV)**

Foi realizada em picnômetro de 25 ml, previamente calibrado através da aferição do mesmo vazio e contendo água. Em seguida foi determinada a massa do picnômetro contendo a solução extrativa. A densidade foi expressa pela média de três determinações e calculada segundo a equação 4.

$$d_{25}^{25} = \frac{m_{se}}{m_{H_2O}} \quad (4)$$

onde:  $d_{25}^{25}$  = densidade relativa;  $m_{se}$  = massa da solução extrativa;  $m_{H_2O}$  = massa da água

##### **2.2.3.1.2 Determinação do resíduo seco**

Aliquota de 20,0 ml da solução extrativa foi exatamente pesada, diretamente, em pesa-filtro, previamente tarado, e evaporada até secura em banho de água, sob agitação ocasional (BÖHME e HARTKE, 1976). Após evaporação da solução extrativa, o pesa-filtro contendo o resíduo foi colocado em balança munida de sistema de secagem por infravermelho nas seguintes condições de operação: nível

de sensibilidade de 120 e temperatura de 105 °C, com intervalo de 10 min entre cada determinação. O resultado expressa a média de seis determinações.

### **2.2.3.1.3 Análise qualitativa de polifenóis em cromatografia de camada delgada**

A cromatografia em camada delgada da solução extrativa foi realizada utilizando os sistemas cromatográficos FI e TI, conforme previamente descrito no item 1.3.4, para análise qualitativa da droga vegetal.

### **2.2.3.1.4 Análise espectrofotométrica de flavonóides totais**

*Método espectrofotométrico sem hidrólise ácida* (BUNDESVEREINIGUNG, 1986b, modificado por DA SILVA, 1999) .

Alíquota de 5,0 ml da solução extrativa, exatamente pesada, foi diluída com água a 500,0 ml. Separadamente, duas alíquotas de 10,0 ml desta solução foram transferidas para balões volumétricos de 25 ml. Ao primeiro balão foram adicionados 2,0 ml de solução metanólica de cloreto de alumínio a 1,5 % (m/v) e o volume completado com água, constituindo a solução amostra (SA). O segundo balão foi completado com água, constituindo o branco da análise. A leitura foi realizada em 315 nm, 15 min após a adição da solução de cloreto de alumínio.

A concentração percentual de flavonóides totais foi expressa como sacuranetina, pela média de seis determinações com três repetições cada, calculada segundo a equação 5.

$$C = \frac{A \times FD}{A_{1cm}^{1\%} \times m} \quad (5)$$

onde: C = concentração de flavonóides totais expressos em grama de sacuranetina por 100 g de solução extrativa; A = absorvância da amostra (UA); FD = fator de diluição (250); m = massa da solução extrativa (g);  $A_{1cm}^{1\%}$  = 526,25 coeficiente de absorção específica do complexo sacuranetina- $AlCl_3$  (DA SILVA, 1999).

*Método espectrofotométrico com hidrólise ácida* (BUNDESVEREINIGUNG, 1986b, modificado por SOARES, 1997).

Cerca de 15,0 g da solução extrativa, exatamente pesados, foram transferidos para balão de fundo redondo, adicionados de 20,0 ml de acetona, 2,0 ml de HCl SR, 1,0 ml de metenamina 0,5 % (m/V) e submetidos à aquecimento, sob refluxo, por 30 min. Após resfriamento, a solução foi transferida para balão volumétrico de 50 ml e o volume completado com acetona (solução mãe-SM). Em funil de separação, 20,0 ml da SM, adicionados de 20,0 ml de água, foram extraídos com 15,0 ml de acetato de etila, repetindo-se a extração, por três vezes, com porções de 10,0 ml de acetato de etila. As fases acetato de etila foram reunidas em balão volumétrico de 50 ml e o volume completado com o mesmo solvente (solução estoque – SE). Aliquotas de 10,0 ml da SE foram transferidas para balão de 25 ml e o volume completado com solução metanólica de ácido acético a 0,5 % (m/v) (solução de compensação – SC). Outra alíquota de 10,0 ml da SE foi transferida para balão de 25 ml, adicionados 2,0 ml de solução metanólica de cloreto de alumínio 2 % (m/v) e o volume completado com solução metanólica de ácido acético a 0,5 % (m/v) (solução amostra – SA). Após 30 min da adição de cloreto de alumínio foi realizada a leitura da SA, em espectrofotômetro, em 420 nm, utilizando a SC como branco.

Os resultados foram expressos em percentual de flavonóides totais, calculados como quercetina, pela média de seis determinações, com três repetições, utilizando a equação 6.

$$C = \frac{A \times FD}{A_{1cm}^{1\%} \times m}$$

onde: C = percentual de flavonóides totais (m/m); A = absorvância da amostra (UA); FD = fator de diluição (312,5); m = massa da solução extrativa (g);  $A_{1cm}^{1\%}$  = 500, coeficiente de absorção específica do complexo quercetina- $AlCl_3$  (SOARES, 1997).

### 2.2.3.1.5 Análise microbiológica

A análise microbiológica da solução extrativa foi realizada de acordo com o item 2.2.2.6, utilizando 5,0 ml de solução extrativa.

### 2.2.3.1.6 Quantificação de polifenóis por CLAE

Para a quantificação dos polifenóis presentes na solução extrativa foi utilizado o método desenvolvido e validado por CLAE, descrito no capítulo 3.

A quantificação da solução extrativa foi realizada considerando a linearidade da mesma, onde a concentração referente ao ponto central da curva foi escolhida para análise. Sendo assim, alíquota de 4,0 ml da SE foi diluída a 100,0 ml com água. A partir desta solução, alíquota de 3,0 ml foi diluída em balão de 25,0 ml com solução de acetonitrila:água (20:80 v/v), constituindo a solução amostra (4,8 µl/ml). Antes da injeção, a amostra foi filtrada por membrana hidrofílica de 0,45 µm. A análise foi realizada em triplicata, sendo cada amostra injetada três vezes.

A concentração de ácido gálico presente na amostra foi calculada utilizando a equação da reta da substância de referência. A concentração das duas outras substâncias quantificadas, porém não identificadas, foi expressa em relação à concentração do ácido gálico na amostra. O teor de ácido gálico e das outras substâncias na solução extrativa foi calculado, considerando o fator de diluição, de acordo com a equação 7:

$$C = C_{am} \times FD \quad (7)$$

Onde: C = concentração da substância na SE (µg/ml);  $C_{am}$  = concentração da substância presente na amostra em estudo, calculada através da equação da reta obtida a partir da curva padrão da solução referência ácido gálico (SRAG) (µg/ml); FD = fator de diluição da amostra (208,33).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Tratamento e caracterização da droga vegetal

A monografia do *Phyllanthus niruri* presente na Farmacopéia Brasileira IV (2003) contém critérios para identificação botânica, ensaios de pureza e doseamento. No entanto, considerando que tecnologicamente outros ensaios, tais como, teor extrativo e granulometria, são necessários para a caracterização da matéria-prima vegetal, os resultados aqui encontrados foram comparados com os dados dos lotes analisados por SOARES (1997), DA SILVA (1999) e COUTO (2000), utilizando sempre o mesmo protocolo de caracterização. Os lotes de matéria-prima caracterizados pelos referidos autores foram todos fornecidos pelo Centro de Pesquisa Químicas, Biológicas e Agrícolas (CQPBA/UNICAMP/SP).

A tabela 2 apresenta os valores de perda por dessecação com que a droga vegetal foi recebida, os quais indicam que ambas as partes foram previamente secas, apresentando teores semelhantes entre si e abaixo do limite máximo especificado, o qual varia de 8 a 14 % (ZHI – CHEN, 1980; LIST e SCHMIDT, 1989), porém próximo do limite máximo permitido. Em virtude desse fato, optou-se por submeter o material à secagem adicional.

Tabela 2: perda por dessecação do material vegetal recebido

Material vegetal	Perda por dessecação (%)
	$\bar{X} \pm s$ (CV %)
Folhas	12,49 ± 0,48 (3,82)
Ramos	12,96 ± 0,26 (2,01)

O protocolo de secagem, estabelecido neste laboratório, consiste em submeter o vegetal rasurado em estufa de ar circulante com temperatura em torno de 45 °C por 7 dias. No entanto, em virtude do material em estudo encontrar-se previamente seco, considerou-se não haver necessidade de longo tempo de exposição. Desse modo a operação de secagem foi acompanhada de amostragem a cada 24 horas, para se verificar a perda por dessecação do vegetal. Quando o valor se manteve constante, finalizou-se o tratamento.

A figura 1 representa a perda por dessecação do vegetal durante a operação de secagem, podendo-se verificar que, após 24 horas de exposição, houve uma forte redução na umidade residual do material, em ambas as partes do vegetal, na ordem de 48,6 % para folhas e 37,8 % para ramos. Comparando-se estatisticamente os resultados entre os dias de secagem, observou-se que, para as folhas, após 24 horas, os valores de perda por dessecação permaneceram praticamente constantes, não havendo diferença significativa ( $\alpha = 0,05$ ) entre os resultados após esse período de tempo, no entanto para ramos a PD % só foi considerada constante após 48 horas de exposição ao calor.

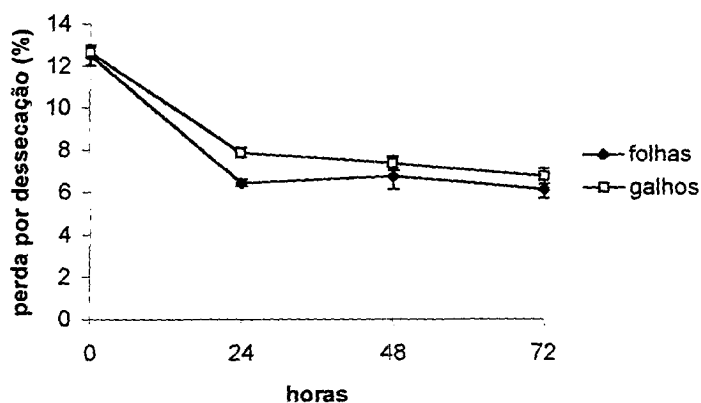


Figura 1: perda por dessecação do material vegetal durante a operação de secagem

A necessidade de um maior tempo de secagem para os ramos pode ser devida às características da sua estrutura vegetal. As folhas possuem parede celular menos rígida que os ramos, o que pode favorecer uma eliminação mais rápida do seu conteúdo volátil. Sendo assim, os resultados indicam que de acordo com o valor de perda por dessecação inicial do material vegetal, bem como da estrutura morfológica a ser seca, não há necessidade de sete dias de secagem.

Na tabela 3 estão discriminados os valores de perda por dessecação de folhas e ramos após a operação de secagem. Observa-se que ambas as partes do vegetal apresentaram valores aproximados entre si, não havendo diferença

significativa ( $\alpha = 0,01$ ), segundo o teste "t" de Student, indicando que a secagem foi homogênea para ambas as partes morfológicas do vegetal.

Tabela 3: perda por dessecação (%) da droga vegetal após secagem em estufa, antes da operação de moagem

Material vegetal	Dados experimentais
	$\bar{X} \pm s$ (CV %)
Folhas	$6,29 \pm 0,36$ (5,74)
Ramos	$6,72 \pm 0,38$ (5,60)

"t" de student: gl=8;  $\alpha = 0,01$ ;  $t_{calculado}=2,39$   $t_{critico}=3,35$

Observou-se um aumento no valor de perda por dessecação do material vegetal após as operações de moagem e mistura (tabela 4), o qual diferiu significativamente ( $\alpha = 0,01$ ) dos valores da droga vegetal obtidos logo após secagem. Provavelmente, o manuseio do material, ou seja, a exposição ao meio ambiente, associado ao aumento da superfície de contato, devido a moagem do material, tenha favorecido uma absorção de umidade.

Comparando-se os resultados de perda por dessecação de diferentes lotes do vegetal após a moagem (Tabela 4) verifica-se que o material em estudo apresenta valor reduzido em relação aos anteriores, entretanto, não difere estatisticamente do resultado encontrado por COUTO (2000). O material tratado pela autora, sofreu um processamento semelhante ao do presente trabalho, uma vez que também foi recebido do fornecedor com valor de PD % dentro do limite de aceitação, mas foi submetido à secagem adicional. Dessa forma, os dados indicam que há uma reprodutibilidade dos resultados de acordo com as condições iniciais do material e o protocolo de secagem utilizado.

Tabela 4: análise comparativa entre perda por dessecação (PD) (%) da matéria-prima vegetal após moagem

Ensaio	Dados experimentais $\bar{X} \pm s$ (CV %)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV %)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
PD (%)	$7,59^b \pm 0,21$ (2,75)	$10,32^a \pm 0,14$ (1,35)	$10,30^a \pm 0,03$ (0,3)	$8,06^b \pm 0,11$ (1,36)

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Tuckey para  $\alpha = 0,01$

Para se verificar o comportamento do material vegetal durante a armazenagem, realizaram-se seguidas análises de perda por dessecação para o controle de umidade da matéria-prima.

Verifica-se na figura 2 (tabela A, anexo) que, após um mês de armazenamento, houve uma redução significativa na PD % da matéria-prima vegetal, indicando um processo de dessorção, sendo que nos meses seguintes ocorreu uma estabilização desses valores sem diferenças significativas. Fenômeno semelhante foi observado por SOARES (1997) que, após 3 meses de armazenamento da matéria-prima vegetal, observou redução significativa na PD % com restabelecimento do valor inicial após 7 meses de armazenamento. Através desses dados pode-se inferir que o procedimento de armazenagem está sendo eficiente na proteção do material, além de que parece haver uma tendência a voltar ao valor de PD % alcançado logo após a secagem.

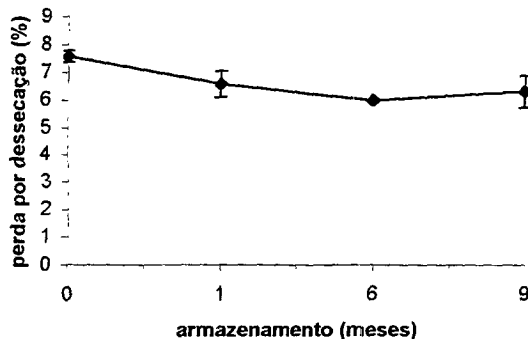


Figura 2: perda por dessecação (%) da matéria-prima vegetal durante armazenagem

A determinação de granulometria foi realizada com a matéria-prima em estudo, bem como com as partes do vegetal que compõe a mistura. Na figura 3 podem ser visualizados os histogramas de distribuição granulométrica (tabela B, C e D, anexo).



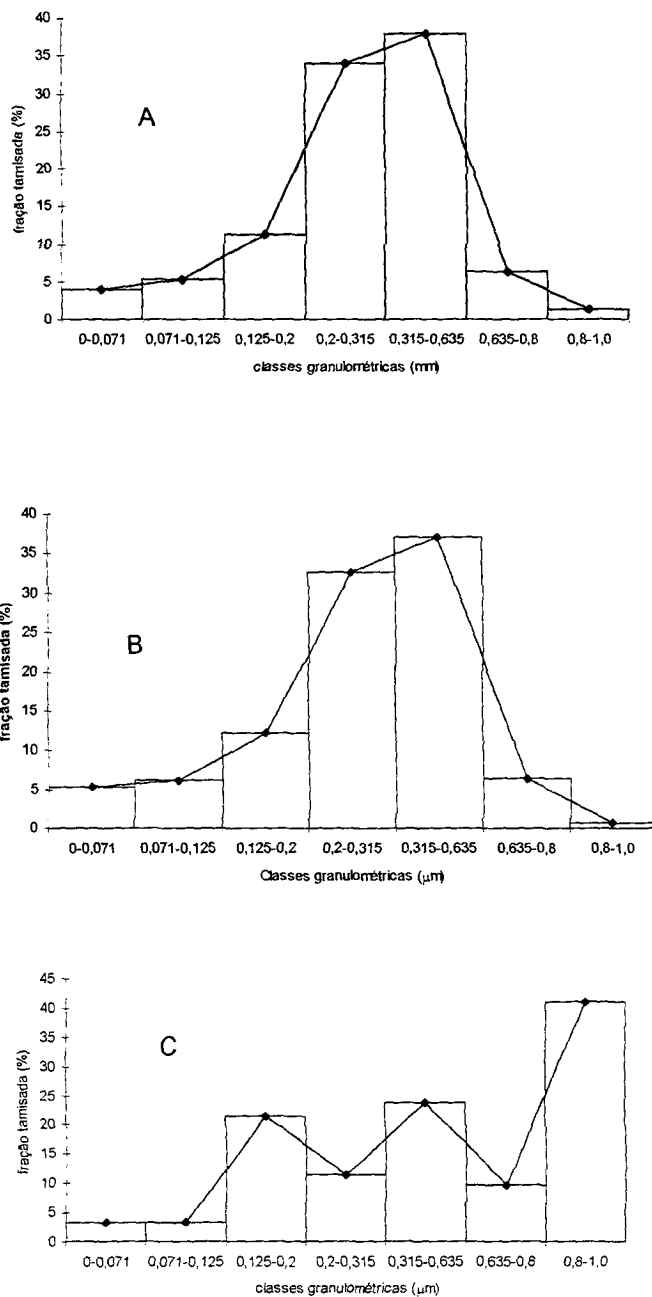


Figura 3: histograma da distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal *Phyllanthus niruri*. A – mistura; B – folhas; C – ramos.

Os diâmetros médios de partícula, calculados a partir das curvas de retenção e passagem (figura A, anexo) foram, de 292,4; 298,1 e 545,7  $\mu\text{m}$  para mistura, folhas e ramos, respectivamente. Os resultados demonstram que há uma grande diferença entre as granulometrias das partes morfológicas do vegetal. Os ramos possuem estruturas mais rígidas que as folhas o que proporciona um padrão de ruptura mais grosseiro podendo resultar em uma maior granulometria, mesmo quando utilizado o mesmo procedimento de moagem.

Através dos histogramas pode ser constatado que a distribuição granulométrica e diâmetro médio de partícula da matéria-prima em estudo, composta pela mistura das partes aéreas, assemelha-se em muito com a distribuição das folhas, o que pode ser explicado pela maior proporção (80 %) destas no material vegetal.

Embora o protocolo de moagem utilizado neste laboratório tenha sido sempre o mesmo, observa-se na tabela 5 uma diferença quanto à granulometria média entre os diferentes lotes da mesma espécie vegetal, sendo o valor coincidente apenas com o lote analisado por SOARES (1997). Apesar de não haver os dados referentes à proporção da composição das estruturas morfológicas que compunham a mistura nos lotes analisados anteriormente, esta pode ter variado, e tal fato, poderia ser a justificativa para as diferenças granulométricas encontradas.

Tabela 5: granulometrias médias (Gm) de matérias-primas vegetais de *Phyllanthus niruri*

Ensaio	Dados experimental	Dados da literatura		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
Gm (mm)	0,2914	0,290	0,32	0,35

Uma outra explicação plausível para a diferença na granulometria média entre os lotes analisados, poderia ser o grau de umidade residual existente na droga vegetal antes da moagem, pois materiais mais secos geralmente são mais friáveis facilitando a sua cominuição (LIST e SCHMIDT, 1989). No entanto, esta afirmação não pode justificar os resultados observados entre os lotes analisados no presente

estudo (comparar tabela 4 e 5), fato este destacado pelos valores de PD % e de Gm encontrados por COUTO (2000), onde o baixo valor de PD % não corresponde a uma menor Gm da matéria-prima vegetal.

Portanto, o conhecimento da proporção de ramos e folhas que constitui a matéria-prima vegetal em estudo é muito importante, uma vez que as diferenças da estrutura tecidual, granulometria e, provavelmente, constituição química das partes morfológicas, poderão ser uma das causas para as variações encontradas nos testes de caracterização quando comparados com outros lotes vegetais. Sendo assim, em se tratando de matéria-prima vegetal constituída por diferentes partes vegetais, além das variações edafoclimáticas e época de colheita também se deve considerar a proporção entre as partes aéreas do vegetal que compõe a matéria-prima.

Apesar das diferenças de Gm entre os lotes analisados, de maneira geral, e considerando a distribuição como um todo, a proximidade de resultados nas diversas frações (figura 4), com diferenças abaixo de 15 %, permite, caso seja empregado o mesmo protocolo de moagem, e de acordo com os objetivos tecnológicos desejados, sugerir, como limites de aceitação para distribuição granulométrica da matéria-prima de *Phyllanthus niruri*, os valores expostos na tabela 6.

Tabela 6: sugestão de especificação para a distribuição granulométrica da matéria-prima vegetal de *Phyllanthus niruri*.

Classe granulométrica (mm)	Especificação (m %)
superior a 0,800	0,5 -2,0
0,800 - 0,200	74 - 77
0,200 - 0,08	18 - 19
inferior a 0,08	5 - 6

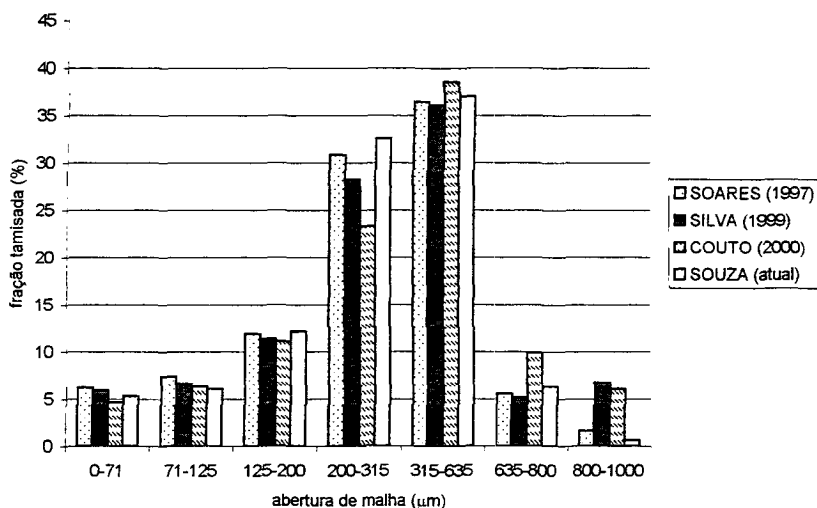


Figura 4: distribuição granulométrica dos diferentes lotes de matéria-prima vegetal de *Phyllanthus niruri*.

Estudos de otimização da técnica e do solvente de extração foram realizados por SOARES (1997), sendo estabelecida a decoção em água como metodologia de extração mais eficiente. Assim, o ensaio de teor extrativo foi realizado, no presente trabalho, apenas como parâmetro de controle de qualidade e de comparação entre diferentes lotes de matérias-primas vegetais (tabela 7).

Tabela 7: teor de extrativos (TE) em diferentes lotes de matéria-prima vegetal

Ensaio	Dados experimentais $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV%)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
TE (g%)	31,29 <sup>a</sup> ± 0,89 (2,84)	31,60 <sup>a</sup> ± 1,22 (3,85)	27,95 <sup>ab</sup> ± 0,63 (2,26)	26,69 <sup>b</sup> ± 1,58 (5,94)

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente ao nível de probabilidade de 1 % pelo teste de Tukey

De acordo com a análise dos resultados verifica-se uma diferença significativa ( $\alpha = 0.01$ ) entre o teor extrativo dos diferentes lotes de matéria-prima vegetal, no entanto, segundo o teste de Tukey, para um nível de probabilidade de 1 %, somente

o lote analisado por COUTO (2000) difere estatisticamente do atual. Os resultados sugerem que as matérias primas utilizadas por SOARES (1997) e a atual apresentam um maior teor de substâncias extrativas que as demais. Tal fato pode estar relacionado às variações inerentes à própria matéria-prima, uma vez que procedem de lugares e ou de épocas de coleta distintas.

A cromatografia em camada delgada é um método de análise qualitativa auxiliar para identificação das substâncias químicas presentes no material vegetal e, como tal, adicional para identificação da espécie vegetal pois, através do perfil cromatográfico, é possível estabelecer critérios para a diferenciação entre as espécies vegetais, bem como detectar produtos de degradação. SOARES (1997) e DA SILVA (1999) testaram vários sistemas cromatográficos para identificação de flavonóides, no entanto, entre os vários padrões de flavonóides testados, os autores concluíram que as substâncias quercitrina e isoquercitrina poderiam estar presentes no extrato aquoso de *P. niruri*. Quanto à presença do flavonóide rutina apenas SOARES (1997) a identificou no extrato aquoso de *P. niruri*. Tal fato pode ser explicado pela variabilidade biológica do vegetal, uma vez que essa substância pode estar presente em teores muito baixos. Além disto, a época e o local de coleta poderiam influenciar na sua formação. A literatura registra a presença de rutina na espécie vegetal *P. niruri*, no entanto não foram encontrados os dados quantitativos correspondentes (CALIXTO e col., 1998).

Sendo assim, no presente trabalho, testaram-se outros sistemas cromatográficos, não apenas para identificar as substâncias presentes na matéria - prima vegetal e definir um perfil cromatográfico que servisse como ensaio aditivo para identificação da espécie, mas também para definir uma substância que pudesse ser utilizada como padrão para a análise quantitativa em CLAE de extratos aquosos de *P. niruri*.

Considerando a separação das substâncias e resolução das manchas dos padrões e das amostras analisadas, os sistemas cromatográficos FI e FV foram os que apresentaram resultados mais satisfatórios.

Observa-se na figura 5 o perfil cromatográfico da solução extrativa de *P. niruri*. Neste caso foram comparadas soluções extrativas de dois lotes de plantas de

origem distinta e uma solução concentrada, exposta ao calor por 24 horas, para identificar possíveis produtos de degradação. Como pode ser visualizado, os perfis cromatográficos das soluções extrativas não apresentaram diferenças entre si. Quanto à presença das substâncias de referência, observaram-se duas manchas com coloração e valores de Rf semelhantes à quercitrina e à isoquercitrina, no entanto, para a rutina, a mancha nas amostras com Rf correspondente apresentou coloração diferente, impedindo sua detecção e comprovação da sua presença, resultado concordante com o encontrado por DA SILVA (1999).

Com a finalidade de confirmar a presença dos flavonóides utilizados como referências, empregou-se o sistema cromatográfico indicado por MABRY (1970) com modificação da concentração de ácido acético.

Observa-se na figura 6, que embora o sistema não apresente boa resolução das manchas, não houve coincidência de comportamento, frente às condições cromatográficas, entre as manchas das soluções extrativas e das substâncias de referências, colocando em dúvida a presença dessas substâncias nas soluções extrativas analisadas.

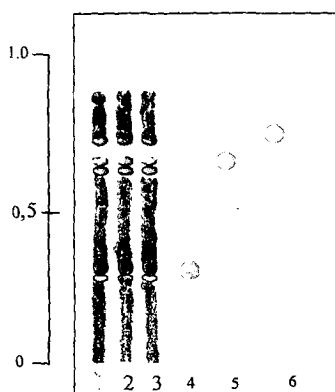


Figura 5: cromatograma de soluções extrativas aquosas de *P. niruri*. Sistema eluente: acetato de etila:acetona:ácido acético:água (60:20:5:5 v/v). Suporte: gel de sílica. Revelação: reagente Natural a 0,3 % (m/v), seguido de solução etanólica de poligol 400 a 0,5 % (v/v) e observação em UV<sub>365 nm</sub>. Amostra: (1) SE lote CQBA; (2) SE lote Quimer, (3) SE concentrada, (4) rutina, (5) isoquercitrina, (6) quercitrina.

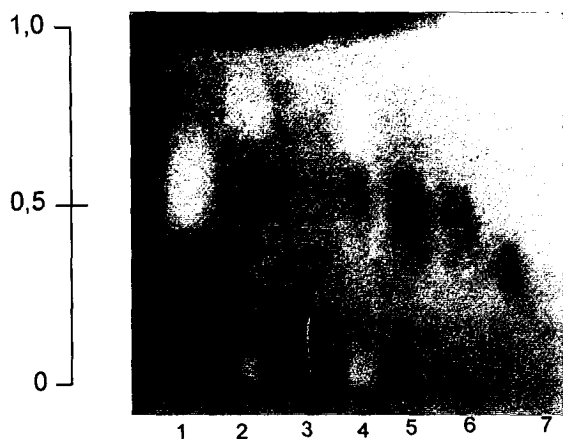


Figura 6: cromatograma das soluções extrativas aquosas de *P. niruri*. Sistema eluente: ácido acético 10 %. Suporte: papel. Revelação: reagente Natural a 0,3 % (m/v), seguido de solução etanólica de poligol 400 a 0,5 % (v/v) e observação em UV<sub>365</sub> nm. Amostra: (1) SE ramos, (2) SE folhas, (3) SE raízes, (4) SE misturas (5) rutina, (6) quercitrina, (7) isoquercitrina

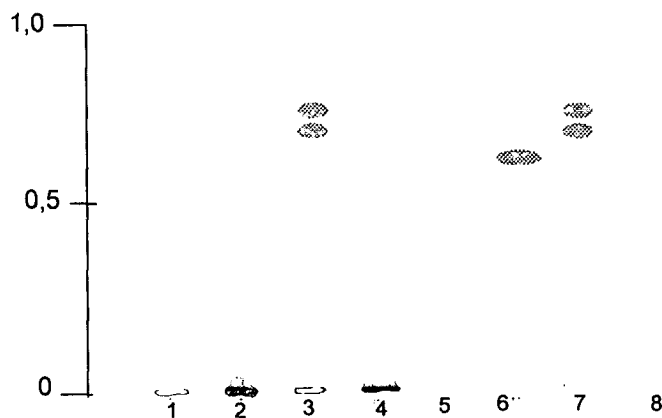


Figura 7: cromatograma de solução extrativa aquosa de *P. niruri*. Sistema eluente: acetato de etila:ácido fórmico:água (95:5:5 v/v). Suporte: gel de sílica. Revelação: vanilina clorídrica 1%, secagem em estufa e observação no visível. Amostra: (1) SE ramos, (2) SE folhas, (3) SE raízes, (4) SE mistura, (5) ácido gálico, (6) ácido elágico, (7) ácido tânico, (8) catequina.

Na análise do perfil cromatográfico de taninos das SE de *Phyllanthus niruri* (figura 7) pode ser identificada a presença de ácido gálico e ácido elágico, os quais possuem manchas com mesma coloração e Rf apresentados pelas substâncias de referência. Analisando as soluções extrativas das diferentes partes morfológicas do vegetal, pode-se observar semelhanças entre os perfis cromatográficos das partes aéreas do vegetal, no entanto a SE das raízes mostra um perfil diferenciado, apresentando uma mancha com Rf superior a do ácido gálico, também presente no padrão de ácido tânico, o qual é formado por uma mistura de taninos. Quanto à presença de catequina, esta apresentou mancha com Rf muito próximo a do ácido gálico, comprometendo a identificação.

Os resultados da CCD serviram para a identificação de taninos hidrolisáveis como possíveis substâncias de referência para análise quantitativa em CLAE. Porém, a separação e a resolução das manchas pelos sistemas cromatográficos testados ainda deixam a desejar, sendo, portanto, necessários novos testes a fim de se estabelecer um sistema que identifique, com maior segurança, as substâncias presentes nos extratos aquosos de *P. niruri*.

A análise quantitativa de substâncias na matéria-prima vegetal representa um dos ensaios de controle de qualidade mais importantes. Sendo assim, o ideal seria escolher um grupo de substâncias específicas para a espécie vegetal e com atividade farmacológica definida. No entanto, na maioria dos casos não se conhece exatamente qual grupo de substâncias é responsável pela atividade terapêutica, acreditando-se, atualmente, que em drogas vegetais há um conjunto de substâncias agindo sinergicamente para desenvolver uma determinada atividade biológica. Desse modo, a alternativa encontrada para um controle de qualidade quantitativo consiste na escolha de um grupo de substâncias, geralmente majoritárias no vegetal, as quais são chamadas de marcadores químicos.

Para o *Phyllanthus niruri* L., até o momento, não há relatos exatos sobre quais grupos de substâncias são responsáveis pelas suas diversas atividades farmacológicas, porém há uma forte tendência em se aceitar serem os polifenóis os responsáveis pela ação contra os distúrbios renais (CALIXTO e col., 1988; MEIXIA e col. 1995).



Vários autores escolheram os flavonóides como grupo de substâncias para o controle de qualidade do vegetal (SOARES, 1997; DA SILVA, 1999; COUTO, 2000). Alguns códigos oficiais, fundamentados na capacidade dos flavonóides de formar complexos com cloreto de alumínio (MABRY, 1970), descrevem metodologias espectrofotométricas para quantificação de flavonóides (DEUTSCHES, 1992; SCHMIDT e GONZÁLEZ ORTEGA, 1993).

Na tabela 8 verifica-se o resultado de teor de flavonóides totais, calculados por dois métodos de análises, na matéria-prima vegetal, observando diferença significativa ( $\alpha = 0,05$ ) entre todos os lotes analisados, em ambos os métodos. Tais diferenças podem ser atribuídas a fatores ambientais e sazonais, pois as matérias-primas foram colhidas em épocas diferentes e ou provinham de fornecedores distintos.

Tabela 8: teor de flavonóides totais (TFT) na matéria-prima vegetal

Ensaio	Dados experimentais $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV%)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
TFT g % (sem hidrólise)	4,77 $\pm$ 0,10 (2,17)	-	5,83 $\pm$ 0,01 (0,23)	-
TFT g % (com hidrólise)	0,97 $\pm$ 0,06 (5,90)	0,80 $\pm$ 0,03 (3,87)	-	0,63 $\pm$ 0,02 (3,82)

A análise microbiológica da droga vegetal foi realizada apenas para determinação da carga microbiana presente na matéria-prima, não sendo identificadas às espécies dos microrganismos. Os resultados da contagem (tabela 9) de bactérias aéreas/mesófilas presentes na droga vegetal indicam um certo grau de contaminação, no entanto, ainda assim, com valor abaixo do limite máximo permitido pela WHO (1998) que é de  $10^7$  UFC/g para drogas vegetais. A contagem de fungos e leveduras foi elevada, estando com valor acima do máximo permitido que é de  $10^4$  UFC/g, no entanto, o lote não foi descartado. Considerando que as etapas de processamento posteriores poderiam reduzir a carga microbiana. Resultado semelhante foi encontrado por GARCIA (2000) que realizou um estudo de avaliação de contagem de microrganismos viáveis em droga vegetal, partes aéreas

de *Phyllanthus niruri*, em amostras de crescimento espontâneo e cultivadas pelo CQPBA (tabela 9).

Tabela 9: contagem de microrganismos viáveis na espécie vegetal *Phyllanthus niruri*

microrganismo	Dado experimental (QUIMER)	GARCIA (2000)	
		Planta de crescimento espontâneo	Planta cultivada (CQPBA)
Bactérias	$1,635 \times 10^4$ UFC/g	$5,2 \times 10^4$ UFC/g	$2,14 \times 10^4$ UFC/g
Fungos	$3 \times 10^4$ UFC/g	$0,45 \times 10^4$ UFC/g	$0,87 \times 10^4$ UFC/g

### 3.2 Caracterização da solução extrativa (SE) de *Phyllanthus niruri*

A solução extrativa, preparada de acordo com metodologia desenvolvida por SOARES (1997), foi caracterizada e os resultados comparados com os previamente descritos na literatura para soluções extrativas provenientes de diferentes lotes de droga vegetal (SOARES, 1997; DA SILVA, 1999; COUTO, 2000).

Na tabela 10 constata-se valores de pH muito próximos entre si, onde as diferenças estatísticas encontradas pelo teste de Tukey poderiam ser explicadas pela própria variação biológica da matéria-prima, ou até mesmo pelo pH da água utilizada.

Tabela 10: análise de pH de soluções extrativas de *P. niruri*

Ensaio	Dados experimentais $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV%)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
pH	$4,57^b \pm 0,05$ (1,04)	$4,74^a \pm 0,0045$ (0,09)	$4,30^c \pm 0,01$ (0,2)	$4,84^a \pm 0,07$ (1,48)

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente a um nível de probabilidade de 5 % pelo teste de Tukey

O resíduo seco é um parâmetro de qualidade tecnológica que expressa a concentração de sólidos solúveis presentes na solução extrativa, servindo como referência para a obtenção do rendimento do processo extrativo, bem como para o

cálculo do rendimento de operação de secagem ao qual a solução extrativa é submetida (CARVALHO, 1997; DE SOUZA, 1997; SOARES, 1997).

Na tabela 11 estão expressos os valores dos resíduos secos obtidos para as soluções extrativas de *P. niruri*. Observa-se diferença estatística significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre os teores de resíduos secos dos diferentes lotes de matéria-prima vegetal, resultado semelhante ao encontrado no ensaio de teor extrativo, podendo ser explicado por originaram-se de lotes distintos de matéria-prima vegetal.

Tabela 11: resíduo seco (g %) das soluções extrativas de *P. niruri*

Ensaio	Dado experimental $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV%)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
Resíduo seco	1,67 <sup>b</sup> ± 0,06 (3,44)	2,13 <sup>a</sup> ± 0,01 (4,34)	1,75 <sup>b</sup> ± 0,03 (1,71)	1,34 <sup>c</sup> ± 0,07 (5,26)

Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente a um nível de probabilidade de 5 % pelo teste de Tukey

No presente trabalho a análise do teor de flavonóides total foi realizada apenas para comparar os resultados com os encontrados na literatura, considerando-o, assim, como mais um parâmetro para o controle de qualidade da solução extrativa.

Tabela 12: resultados de teor de flavonóides totais (TFT) em solução extrativa de *P. niruri*

Ensaio	Dados experimentais $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Dados da literatura $\bar{X} \pm s$ (CV%)		
		SOARES (1997)	DA SILVA (1999)	COUTO (2000)
TFT g % (sem hidrólise)	2,05 ± 0,04 (1,89)	-	3,04 ± 0,02 (0,73)	-
TFT g % (com hidrólise)	5,28 ± 0,22 (4,18)	8,73 ± 0,21 (2,40)	-	6,4 ± 0,4 (5,66)

Comparando-se o teor de flavonóides totais (tabela 12) presentes na solução extrativa com os resultados descritos na literatura, observa-se diferença significativa ( $\alpha = 0,05$ ) entre os valores. Tal resultado é coerente com o resultado de flavonóides

totais encontrado na matéria-prima vegetal, para o qual a variação foi atribuída a fatores ambientais e à sazonalidade.

A análise qualitativa da solução extrativa foi realizada utilizando os sistemas FI e TI, previamente desenvolvidos e testados para identificação da droga vegetal. Comparando-se a solução extrativa preparada a partir de droga vegetal oriunda da Quimer com a do CQPBA não foram observadas diferenças entre os perfis cromatográficos.

Para a análise quantitativa da solução extrativa foi utilizado método por CLAE, conforme descrito no capítulo 3, sendo o ácido gálico empregado como substância de referência. Duas outras substâncias, também presentes na solução extrativa, porém não identificadas, foram quantificadas, sendo suas concentrações expressas em relação ao ácido gálico.

Os resultados das concentrações dos polifenóis analisados nas soluções extrativas estão expostos na tabela 13, bem como a comparação dos resultados entre os teores de ácido gálico (S1) e substâncias S2 e S3, presentes nas soluções extrativas oriundas de matérias primas vegetais de fornecedores diferentes. A análise estatística realizada por teste "t" de Student ( $\alpha = 0,05$ ) mostrou que não há diferença significativa entre os teores de polifenóis nas diferentes amostras.

Tabela 13: comparação entre o teor de polifenóis ( $\mu\text{g/ml}$ ) em soluções extrativas procedentes de dois lotes de droga vegetal de procedência diferente

Substância (S)	Lote Quimer $\bar{X} \pm s$ (CV%)	Lote CQPBA * $\bar{X} \pm s$ (CV%)
S1 (ácido gálico)	135,0 $\pm$ 2,31 (1,71)	125,9 $\pm$ 7,55 (5,90)
S2	256,5 $\pm$ 5,49 (2,14)	230,8 $\pm$ 15,87 (6,80)
S3	337,5 $\pm$ 5,79 (1,71)	276,7 $\pm$ 17,00 (6,10)

\*Este lote de matéria-prima foi o utilizado para validação da metodologia

A análise microbiológica foi realizada como parâmetro de controle de qualidade e também para verificar se o procedimento de decocção era capaz de reduzir a carga microbiana presente na droga vegetal. Vários autores descrevem que o processo de extração da droga vegetal, quando realizado a altas temperaturas, pode reduzir significativamente o grau de contaminação do material

inicial (DE LA ROSA e col., 1995; SANTOS e col., 1995; ARAÚJO e OHARA, 2000; MARTINS e col., 2001).

A carga bacteriana da SE de *Phyllanthus niruri*, de acordo com a metodologia empregada, foi de  $65,5 \times 10^1$  UFC/ml. Os resultados sugerem que a decocção, provavelmente, foi a razão da redução de 96 % no grau de contaminação da SE em relação à droga vegetal, encontrando-se assim com um valor bem abaixo do máximo permitido ( $10^7$  UFC/ml). Com relação à presença de fungos e leveduras, a redução foi de 99 %, sendo encontrado na SE uma carga de  $30,5 \times 10^1$  UFC/ml, valor também abaixo do máximo permitido ( $10^3$  UFC/ml) pela WHO (1998).

#### 4. CONCLUSÃO

- A matéria-prima vegetal obtida da empresa fornecedora de plantas medicinais Quimer Comercial Ltda, de acordo com os parâmetros analisados, apresentou resultados diferenciados dos lotes analisados por SOARES (1997), DA SILVA (1999) e COUTO (2000), todos procedentes do CPQBA, o que pode ser atribuído à variação biológica do vegetal. Esses resultados evidenciam a necessidade de maiores estudos de caracterização desta espécie vegetal quando proveniente de regiões e épocas de coletas diferentes, a fim de estabelecer especificações de qualidade.
- A análise qualitativa, por cromatografia em camada delgada, evidenciou a presença de taninos hidrolisáveis na solução extrativa aquosa do vegetal. Quando comparadas soluções extrativas obtidas a partir de droga vegetal proveniente de fornecedores diferentes, Quimer e CPQBA, não foi observada diferença no perfil cromatográfico.
- O ensaio de granulometria realizado com a matéria-prima composta somente por folhas e ou ramos demonstrou que os mesmos apresentam distribuição granulométrica e o tamanho médio de partícula diferenciados. Resultado este que deve ser levado em consideração para a obtenção de uma matéria-prima composta pela mistura dessas partes, uma vez que a variação da proporção das mesmas pode contribuir para diferenciação dos resultados nos testes de caracterização da matéria-prima.
- A análise microbiológica realizada na matéria-prima vegetal demonstrou que a contagem de bactérias encontrava-se dentro do limite máximo permitido, porém a contagem de fungos foi superior ao valor aceitável. No entanto, a análise na solução extrativa mostrou uma drástica redução da carga microbiana, tanto de bactérias como de fungos, mostrando contagens bem abaixo do máximo aceitável.

## 5. REFERÊNCIAS

- AKERELE, O. The Who Traditional Medicine Program: Policy and Implementation. **International Medicine Newsletter**, v. 1, n.1, p. 1-3, 1985.
- AMAT, AG. VAJIA, M.E.; RODRIGUEZ, M.E.; SANCHEZ, F. Estudio farmacobotánico y farmacognóstico de *Phyllanthus niruri* L. y *Phyllanthus tenellus* Roxb. (Euphorbiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 10, n. 3, p. 161-169, 1991.
- ARAÚJO, ALA e OHARA, M.T. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feiras de São Paulo e de infusos derivados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 36, n. 1, p. 129-137, 2000.
- BÖHME, H. e HARTKE, K. (Hrsg.) **Europäisches Arzneibuch, Band I und II, Kommentar**. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1976. p.1114-1118.
- BOYD, M.R. The Position of Intellectual Property Rights in Drug Discovery and Development from Natural Products. **Journal of Ethnopharmacology**, n.51, p. 17-27, 1996.
- BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBÄNDE (Hrsg.). **Deutscher Arzneimittel – Codex. 1986**. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986a. v.1; Codex – Probe 4, 9.
- BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBÄNDE (Hrsg.). **Deutscher Arzneimittel – Codex. 1986**. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986b. v.2; Holunderblüten, p.1-3.
- CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R.A. A Review of the Plants of Genus *Phyllanthus*: Their Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Potential. **Medical Research Review**, v. 18, n. 14, p. 225-258, 1998.
- CARVALHO, E.L.S. **Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. (espinheira santa)**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de Mestrado.

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

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

DE LA ROSA, M.C.; MEDNA, M.R.; VIVAR, C. Microbiological Quality of Pharmaceutical Raw Materials. **Pharmaceutical Acta Helvetiae**, v. 70, p. 227-232, 1995.

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

DEUTSCHES Arzneibuch. 10. Ausgabe. Stuttgart: Govi, Frankfurt: Wissenschaftliche, 1992.

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

GARCIA, M.C. **Determinação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química e biológica de *Phyllanthus niruri* L. e *Phyllanthus tenellus* Roxb. (Euphorbiaceae)**. Santa Maria: Curso de Ciência e Tecnologia Farmacêutica. UFSM, 2000. Dissertação de Mestrado.

HARBONE, J.B. **Phytochemical Methods**. 2 ed., London: Chapman and Hall, 1984.

LIST, P.H. e SCHIMDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

MABRY, T.J.; MARKHAM, K.R.; THOMAS, M.B. **The Systematic Identification of Flavonoids**. New York: Springer, 1970.



MARQUES, L.C. e PETROVICK, P.R. Normatização da produção e comercialização de fitoterápicos no Brasil. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003, cap. 14. p. 327 – 369.

MARTINS, H.M.; MARTINS, M.L.; DIAS, M.I.; BERNARDO, F. Evaluation of Microbiological Quality of Medicinal Plants Used in Natural Infusions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 68, p. 149-153, 2001.

MEIXIA, W.; HAOWEI, C.; YANJUNG, L.; LINMIN, M.; GULONG, Z.; KAI, M. Herbs of the Genus *Phyllanthus* in the Treatment of Chronic Hepatitis B: Observations with Three Preparations from Different Geographic Sites. **Journal of Laboratory Clinical Medical**. v. 126, p. 350-352, 1995.

PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; BASSANI, V.L. From a medicinal plant to a pharmaceutical dosage form. A (still) long way for the brazilian medicinal plants. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.

SANTOS, P.R.V.; OLIVEIRA, AC.X.; TOMASSINI, T.C.B. Controle microbiológico de produtos fitoterápicos. **Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo**. v. 31, n. 1, p. 35-38, 1995.

SCHMIDT, P.C. e GONZÁLEZ ORTEGA, G. Passionblumenkraut: Bestimmung des Gesamtflavonoidgehaltes von Passiflorae herba. **Deutscher Apotheker Zeitung**, v. 47, p. 17-26, 1993.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 2 ed., Porto Alegre: UFRGS, 1995.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra)**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de Mestrado.

STAHL, E. **Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook**. 2 ed., Berlin: Springer, 1969.

UNANDER, D.W.; WEBSTER, G.L.; BLUMBERG, B.S. Uses and Bioassays in *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) Part 2. Subgenus *Phyllanthus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.34, n.2-3, p.97-133, 1991.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 9. überarb. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.

WAGNER, H. e BLADT, S. **Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas**. 2 ed., Berlin: Springer, 1996.

ZHI-CHEN, L. **General control methods for vegetable drugs**. Geneve: WHO, 1980. p. 71 – 75.

## ANEXOS

Tabela A: perda por dessecação (% m/m) da matéria-prima vegetal durante armazenagem

Armazenagem (meses)	Perda por dessecação % $\bar{X} \pm s$ (CV %)
0*	7,59 $\pm$ 0,21 (2,75)
1	6,56 $\pm$ 0,47 (7,24)
6	5,98 $\pm$ 0,012 (0,21)
9	6,3 $\pm$ 0,56 (9,0)

\* logo após moagem e mistura

Tabela B: distribuição granulométrica ponderal da matéria-prima vegetal de *Phyllanthus niruri*

FG (mm)	AM (mm)	F (%)	FR (%)	FP (%)
1,000-0,800	0,900	0,60	0,60	99,40
0,800-0,635	0,717	6,34	6,94	93,06
0,635-0,315	0,475	36,96	43,9	56,10
0,315-0,200	0,257	32,53	46,43	23,57
0,200-0,125	0,162	12,19	88,62	11,38
0,125-0,071	0,102	6,04	94,66	5,34
0,071-0	0,040	5,34	100	0
TOTAL		100,00		

FG = faixa granulométrica; AM = abertura média de malha; F = frequência relativa; FR = fração retida; FP = fração de passagem.

Tabela C: distribuição granulométrica ponderal das folhas moídas de *Phyllanthus niruri*

FG (mm)	AM (mm)	F (%)	FR (%)	FP (%)
1,000-0,800	0,900	1,34	1,35	98,65
0,800-0,635	0,717	6,24	7,59	92,41
0,635-0,315	0,475	37,91	45,5	54,5
0,315-0,200	0,257	33,94	79,44	20,56
0,200-0,125	0,162	11,25	90,69	9,31
0,125-0,071	0,102	5,35	96,04	3,96
0,071-0	0,040	3,96	100	0
TOTAL		100,00		

FG = faixa granulométrica; AM = abertura média de malha; F = frequência relativa; FR = fração retida; FP = fração de passagem

Tabela D: distribuição granulométrica ponderal dos ramos moídos de *Phyllanthus niruri*

FG (mm)	AM (mm)	F (%)	FR (%)	FP (%)
1,000 -0,800	0,900	35,97	35,97	64,03
0,800-0,635	0,717	8,41	44,38	55,62
0,635-0,315	0,475	20,95	65,33	34,67
0,315-0,200	0,257	10,05	75,38	24,62
0,200-0,125	0,162	18,84	94,22	5,78
0,125-0,071	0,102	2,84	97,06	2,94
0,071-0	0,040	2,94	100	0
TOTAL		100,00		

FG = faixa granulométrica; AM = abertura média de malha; F = frequência relativa; FR = fração retida; FP = fração de passagem.

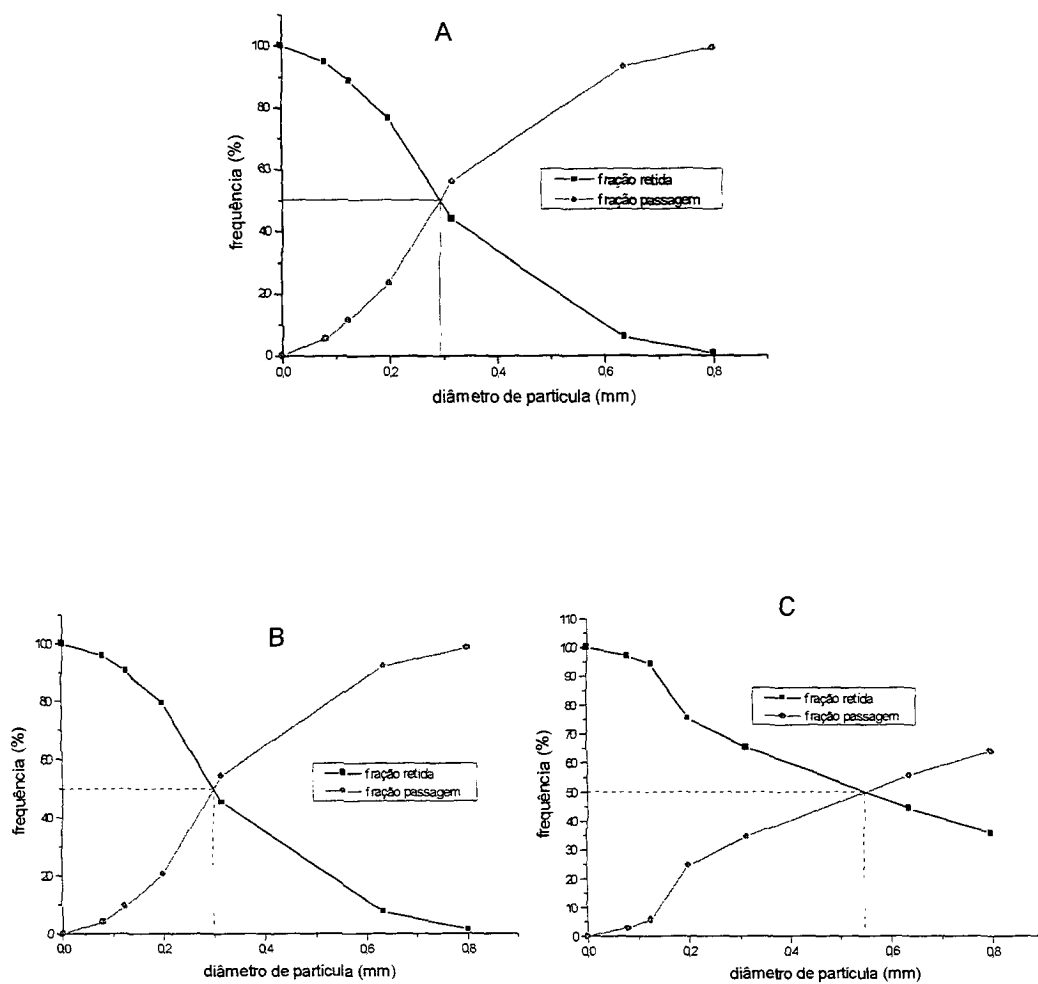


Figura A: curvas de retenção e passagem de matéria-prima vegetal de *P. niruri* A = mistura de partes aéreas, B = folhas, C = ramos

**CAPÍTULO 3 – Validação de Método por Cromatografia Líquida de Alta  
Eficiência (CLAE) para Doseamento de Polifenóis da Matéria-  
Prima Vegetal de *Phyllanthus niruri***

---

## 1. INTRODUÇÃO

Uma matéria-prima vegetal, em virtude de se tratar de uma matriz complexa, apresenta, geralmente, composição química variável que pode ser influenciada por uma série de fatores, principalmente edafo-climáticos e agronômicos. Assim, o controle analítico de um produto fitoterápico não constitui tarefa fácil, exigindo muitas vezes metodologias com um maior número de pontos críticos, os quais devem ser rigorosamente padronizados e validados (BONATI, 1991). O emprego da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) permitiu grandes avanços nas análises de produtos naturais e, apesar do alto custo e tempos de análises relativamente longos (WANG e col., 2000), esta técnica apresenta a grande vantagem da elevada sensibilidade e seletividade, permitindo uma quantificação mais exata das substâncias medidas, bem como uma reduzida influência da matriz biológica (SWARTZ e KRULL, 1997; PETRY, 1999; VIÑAS e col., 2000).

A comprovação documental da viabilidade de um método analítico que possa ser utilizado para o controle de qualidade de um medicamento em todas as fases de desenvolvimento, ou seja, desde a matéria-prima e produtos intermediários até a forma farmacêutica final, é condição indispensável para garantir sua eficácia, segurança e manutenção de suas especificações técnicas, bem como nas atividades de registro junto ao Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, produção e comercialização (BRASIL, 2003).

A espécie *Phyllanthus niruri*, amplamente utilizada pela medicina popular, principalmente devido suas propriedades contra problemas renais (CALIXTO e col., 1998), apresenta carência de metodologias analíticas que possam ser empregadas, com segurança, no controle de qualidade do vegetal (ISHIMARU e col., 1992; SHARMA e col., 1993; DA SILVA, 1999).

Sendo assim, esta parte do trabalho tem por objetivo desenvolver e validar uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) visando o doseamento de polifenóis presentes na solução extrativa de *Phyllanthus niruri*, bem como estabelecer um método para o controle de qualidade da matéria-prima vegetal.

**PUBLICAÇÃO: Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic  
Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial  
Parts**

---

Short communication publicado no periódico *Journal of Pharmaceutical and  
Biomedical Analysis*





Short communication

## Validation of a LC method for the analysis of phenolic compounds from aqueous extract of *Phyllanthus niruri* aerial parts

T.P. De Souza, M.H. Holzschuh, M.I. Lionço, G. González Ortega, Pedro Ros Petrovick \*

*Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia/UFERS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 2752, Porto Alegre, RS 906010-000, Brazil*

Received 11 March 2002; received in revised form 8 April 2002; accepted 29 April 2002

### Abstract

A reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation and quantitative method using a phosphoric acid-acetonitrile gradient was developed to analyze phenolic compounds present in aqueous extract from the aerial parts of *Phyllanthus niruri*. The chromatographic method was validated for linearity, precision and accuracy for both reference substance (gallic acid) and for three well resolved peaks from *P. niruri* aqueous extract. Both calibration curves were linear with correlation coefficients higher than 0.999. The reproductibility for the three peaks ranged from 2.3% to 4.6% and the accuracy for gallic acid in the aqueous extract was 103%. The method allowed the complete resolution of three peaks, one of them was identified by diode array detection as gallic acid. The analysis of the botanic morphological elements of the aerial parts from *P. niruri* showed that the leaves have a higher amount of phenolic compounds than the branches. © 2002 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

**Keywords:** *Phyllanthus niruri*; HPLC assay; Phenolic compounds

### 1. Introduction

*Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) is a medicinal plant widely distributed, and is largely used in folk medicine to treat kidney stones and viral hepatitis [1,2]. Pharmacological experiments confirm its therapeutic efficacy and safety [1,3–5]. Intensive phytochemical examinations of this

plant have been carried out. Constituents such as alkaloids, flavonoids, lignans, tannins, phenols and terpenes have been identified. However, the composition of the aqueous extract, as used for medicinal purposes, has not been adequately studied. Although the specific compounds have not been precisely defined, some research results credit the therapeutic action on urinary tract stones to the phenols [1,6]. Valid quality control methods need to be developed in order to comply with regulatory requirements if this plant is to be used by the pharmaceutical industry [7,8].

\* Corresponding author.  
E-mail address: prpetrov@farmacia.ufrgs.br (P.R. Petrovick).

Several high performance liquid chromatographic (HPLC) methods have been reported to quantify phenolic compounds in complex biological matrices such as herbal raw materials, extracts and food products [9–13]. However, currently there is no method with adequate resolution to quantify substances present in the aqueous extractives of *P. niruri*. Therefore the aim of this work is to validate a HPLC method applied to the quality control of *P. niruri* both as raw material and as a technological intermediate product.

## 2. Experimental

### 2.1. Plant material

*P. niruri* aerial parts were delivered by the 'Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas' from the Campinas State University, SP, Brazil. The plant was dried at 40 °C for a week in an air oven. The separated leaves and branches were reduced in a knife mill (Retsch SK1).

### 2.2. HPLC analysis

The analyses were carried out using a Shimadzu liquid chromatograph equipped with a pump (LC-10 AD), a gradient controller (FCV-10 AL), an autosampler (SIL-10 A) and a UV/vis detector (SPD-10 A), controlled by CLASS LC-10 software. The column was a RP-18 LiChrospher 250 × 4 mm i.d., 5 µm particle diameter (Merck, Darmstadt, Germany). A pre-column Shimadzu (10 × 4 mm i.d.) packed with Bondapak C18 125 Å (Waters, Milford, USA) was employed. A Waters diode array detector was used to check the peak purity of each compound. The absorbance was measured from 200 to 800 nm every 1 s with 4.8 nm resolution.

#### 2.2.1. Chemicals and reagents

Acetonitrile (HPLC grade, Merck, Darmstadt, Germany), phosphoric acid (Merck, Darmstadt, Germany) and ultrapure water from Milli-Q system (Millipore, Bedford, USA) with conductivity of 18 MΩ were used for the mobile phase prepara-

tion. Gallic acid (Reag. Ph. Eur., Merck, Darmstadt, Germany) was used as external standard.

#### 2.2.2. Chromatographic conditions

The chromatographic separation was carried out using a mobile phase with phosphoric acid 1% (w/w) as solvent A and acetonitrile: phosphoric acid 1% (w/w) (50:50 (v/v)) as solvent B at a flow-rate of 0.6 ml min<sup>-1</sup>. The gradient program was as follows: 22–24% B (7 min), 24–40% B (10 min), 40–100% B (8 min), 100–22 B% (15 min). The injection volume was 20 µl. The peaks were detected at 275 nm. Chromatographic peaks were identified by comparison of the retention time with standard gallic acid and by diode array spectra.

#### 2.2.3. Samples preparation

**2.2.3.1. Extract preparation and calibration curve.** The aqueous extract from *P. niruri* 7.5% (w/v) was obtained by decoction of the aerial parts for 15 min. For the calibration curve, a stock solution (4.0 ml of aqueous extract in 100.0 ml water) was diluted with acetonitrile: water (20:80, v/v) yielding concentrations of 1.6, 3.2, 4.8, 6.4 and 8.0 µl ml<sup>-1</sup>.

**2.2.3.2. Gallic acid calibration curve.** Gallic acid was dissolved in acetonitrile:water (20:80, v/v) to produce concentrations of 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 and 1.6 µg ml<sup>-1</sup>. The samples were filtered through 0.45 µm membrane (Millipore, Bedford, USA) prior to injection. Each analysis was repeated three times and the calibration curves were fitted by linear regression.

### 2.3. Validation parameters

#### 2.3.1. Linearity

The linearity of the HPLC calibration curves was determined for both the gallic acid standard preparation and the three peaks of the extract from *P. niruri* over a 3 days period. The slope and the other statistical parameters of the calibration curves were calculated by linear regression.

### 2.3.2. Reproducibility and intermediate precision

The reproducibility was evaluated on the same day, for each sample, while the inter-day precision was assessed for 3 consecutive days. The data were expressed as the relative standard deviation (R.S.D.%).

### 2.3.3. Accuracy

The accuracy was evaluated through recovery studies by adding known amounts of the gallic acid solution to the extract with a concentration of  $4.8 \mu\text{l ml}^{-1}$ . Controls from all samples were prepared and analyzed. The recovery experiment was performed at three concentrations of standard gallic acid (low, medium and high) [14].

### 2.3.4. Detection limit

The detection limit was determined from the calibration curve of the standard gallic acid [14].

## 2.4. Analysis of leaves and branches of *P. niruri*

The aqueous extracts of the leaves and branches were prepared by decoction as described above.

## 3. Results and discussion

A variety of solvent systems based on acetonitrile, methanol and phosphoric acid were tested to improve the separation of phenolic compounds in the aqueous extract of *P. niruri*. A gradient sys-

tem was chosen because of the matrix complexity. The mobile phase acetonitrile:water was found to be adequate, although phosphoric acid was essential for a good resolution of the chromatogram.

The coelution of substances absorbed by the column packing is a frequent problem in the HPLC analysis of complex mixtures, such as vegetable raw material. This is due to the negative influence of the saturation of the chromatographic column by nonpolar substances [15]. In order to clean the column and detector and reduce this negative influence, a gradient method was designed using a significantly high organic concentration of the mobile phase prior to return to initial conditions.

The chromatographic profile (Fig. 1) of the extract from *P. niruri* showed three resolved peaks ( $Rs_{1-2} = 1.61$ ;  $Rs_{2-1} = 1.61$ ;  $Rs_{3-2} = 2.66$ ). Peak 1 with a retention time of 6.6 min was identified through comparison of diode array (DAD) spectra and co-chromatography as gallic acid. The DAD spectrum of peak 2 (Fig. 2), with a retention time of 20.2 min, can be assigned to a flavone [16] and peak 3, with a retention time of 21.5 min as a gallic acid derivative.

The chromatographic method was also evaluated for linearity, precision and accuracy. The linearity of the method was determined through the gallic acid calibration curve and the calibration curve of the corresponding peak of the extract from *P. niruri* on three different days (Table 1). When gallic acid was used as a reference substance, the method showed a highly significant

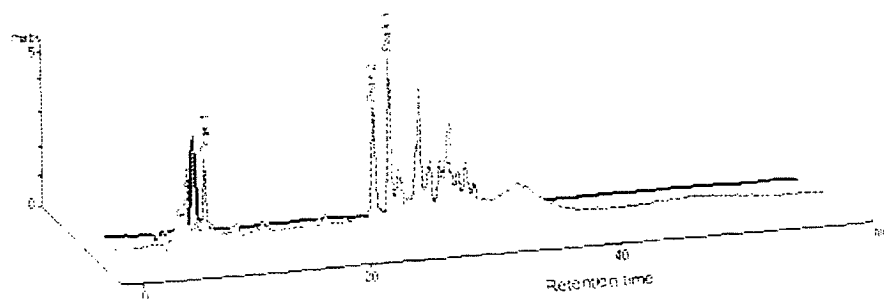


Fig. 1. HPLC chromatogram of *P. niruri* extract (—) and gallic acid (---).

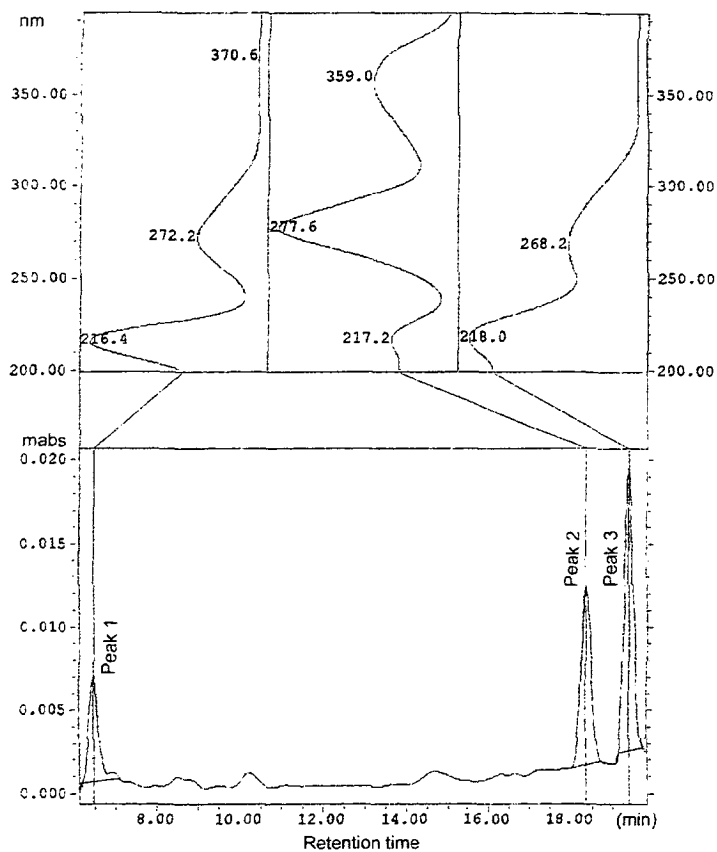


Fig. 2. DAD spectra of three studied HPLC peaks from *P. niruri* extract.

correlation coefficient (0.9991) with no significant deviation from linearity and very low detection limit ( $0.13 \mu\text{g ml}^{-1}$ ). The R.S.D. of the slope was of 3.2%.

The regression curves for the peaks of the extract from *P. niruri* revealed a correlation coefficient greater than 0.999 (R.S.D. > 0.1%) and no significant deviation from linearity. The R.S.D. of the slopes of the curves from the extract were 2.7, 5.9 and 4.4% for peak 1–3, respectively. These results indicate the method has a high linearity.

The reproducibility test demonstrated that the analyzed peaks presented a R.S.D. range from 2.3 to 4.6% (Table 2). This data could be considered

Table 1  
Linearity parameters for the HPLC peaks of *P. niruri* extract

Peak	$r^2$	P-value	$a$	$b$
1	0.9999	$2.8 \times 10^{-6}$	-3543.4	178.1
2	0.9998	$1.8 \times 10^{-7}$	-4373.2	317.8
3	0.9999	$2.4 \times 10^{-7}$	-4126.6	374.8

$r^2$ , Regression coefficient;  $a$ , slope;  $b$ , intercept.

Table 2  
Reproducibility and intermediate precision analysis for the reference substance (gallic acid) and *P. niruri* extract

Peak	Concentration ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Retention time (min) $\bar{X}$ ; R.S.D. (%)	Mean area ( $\text{mV s}^{-1}$ )	Reproducibility R.S.D. (%)	Intermediate precision R.S.D. (%)
Gallic acid	0.82	6.69: 0.95	76274.9	0.05–0.08	0.47
1	0.60	6.61: 0.39	55955.2	3.7–4.6	5.7
2	1.11 <sup>a</sup>	20.24: 0.55	104109.6	2.5–3.8	7.2
3	1.33 <sup>a</sup>	21.52: 0.43	125190.5	2.3–2.9	6.9

<sup>a</sup> Calculated as gallic acid.

Table 3  
Results of recovery studies for gallic acid of the extract from *P. niruri*

Theoretical concentration ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Experimental concentration ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )	Recovery (%) ( $\bar{X}$ : CV %)	Total recovery (%) ( $\bar{X}$ : CV%)
1.09	1.12	102.44: 0.52	
1.56	1.62	103.85: 0.62	103.50: 0.89
2.05	2.14	104.23: 0.27	

satisfactory since the majority of similar research data suggests a R.S.D. up to 6% as acceptable [17]. The inter-day precision for the peaks was lower than 7.2%. R.S.D. values of 15% are considered appropriate when the matrix complexity of the extract is taken into consideration [18]. The Anova showed no statistical difference ( $\alpha = 0.001$ ) between the areas of peaks obtained on different days, confirming acceptable precision. Furthermore, the method was evaluated with respect to qualitative aspects, taking into account the precision in retention time and elution purity of the peaks of the extract from *P. niruri*. A high reproducibility in the retention time was obtained with relative standard deviations less than 1% in all cases (Table 2). The elution purity was verified through the spectra taken from the upward slope, the apex and the downward slope of the three peaks of interest. Peak 1 was compared with standard gallic acid and no peak contamination was observed (Fig. 2).

To verify sample stability throughout the analysis time and the behavior of the extract of *P. niruri* under the studied conditions, the same sample was analyzed for 12 h. The results showed the

same chromatographic profile during total analysis time and no degradations products were detected. In this experiment the concentrations of peaks presented a R.S.D. of 4.18 for peak 1, 3.65 for peak 2 and 2.19% for peak 3, which confirms reproducibility of the method (Table 2).

Recovery tests were performed to validate the method accuracy. Peak 1, previously identified as gallic acid, was used as a reference for this test. The method produced a medium recovery of 103% with R.S.D. below 2% in all analyzed concentrations (Table 3), confirming adequate accuracy. Furthermore the addition of gallic acid into the aqueous extract from *P. niruri* did not influence the area of other two peaks.

Table 4  
Quantification of gallic acid and other major substances in aqueous extracts from the aerial parts of *P. niruri*

Aerial part	Concentration ( $\mu\text{g ml}^{-1}$ )		
	Gallic acid	Peak 2	Peak 3
Leaves	177	424	534
Branches	14	17.5	13

The investigation of separate aqueous extracts of leaves and branches showed the same chromatographic behavior. Quantitatively the leaves presented a higher concentration of phenolic compounds than the branches (Table 4).

#### 4. Conclusion

The high-performance liquid chromatographic method developed to analyze phenolic compounds in an aqueous extract of *P. niruri* was linear and reproducible for all selected peaks. The method was also accurate for the assay of gallic acid, suggesting its use as a suitable reference substance for quantitative analysis.

The validation procedure confirms that this is an appropriate method for the purpose of quality control when *P. niruri* is used either as raw material or an aqueous extract by the pharmaceutical industry.

#### Acknowledgements

This work was supported by the Brazilian National Research Council (CNPq). The authors wish to thank to Professor Dr H. Derendorf (University of Florida) for his critical reading of the manuscript.

#### References

- [1] J.B. Calixto, A.R.S. Santos, V. Cechinel-Filho, R.A. Yunes. *Med. Res. Rev.* 18 (1998) 225–258.
- [2] D.W. Unander, G.L. Webster, B.S. Blumberg, J. *Ethnopharmacol.* 34 (1991) 97–133.
- [3] A.H. Campos, N. Schor, *Nephron* 81 (1999) 393–397.
- [4] R.A. Hussain, J.K. Dicket, M.P. Rosser, J.A. Matson, M.R. Koslowski, R.J. Brittain, M.L. Web, P.M. Rose, P.A. Fernandes, *J. Nat. Prod.* 58 (1995) 1515–1520.
- [5] W. Meixia, C. Haowei, L. Yanjung, M. Linmin, Z. Gu-long, M. Kai, *J. Lab. Clin. Med.* 126 (1995) 350–352.
- [6] K. Ishmaru, K. Yoshimatsu, T. Yamakawa, H. Kamada, K. Shimomura, *Phytochemistry* 31 (1992) 2015–2018.
- [7] BRAZIL, Ministry of Health, Health Surveillance Agency, Resolution nr. 17 from 25 February 2000, *Diário Oficial da União*, 24 Abr 2000.
- [8] EMEA, European Agency for Evaluation of Medicinal Products, Note for Guidance on Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Herbal Drugs, Herbal Drug Preparations and Herbal Medicinal Products, London, 1999 [EMA/HMPWP/1999].
- [9] A. Escarpa, M.C. González, *J. Chromatogr. A* 897 (2000) 161–170.
- [10] M. Keinänen, R. Julkunen-Titto, *J. Chromatogr. A* 793 (1998) 370–377.
- [11] M.A. Rodríguez-Delgado, S. Malovaná, J.P. Pérez, T. Borges, F.J.G. Montelongo, *J. Chromatogr. A* 912 (2001) 249–257.
- [12] H. Wang, K. Helliwell, *Food Res. Int.* 34 (2001) 223–227.
- [13] A. Escarpa, M.C. González, *Anal. Chim. Acta* 427 (2001) 119–127.
- [14] ICH, International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, 1996.
- [15] P.E. Milbury, *Methods Enzymol.* 335 (2001) 15–26.
- [16] T.J. Mabry, K.R. Markham, M.B. Thomas (Eds.), *The Systematic Identification of Flavonoids*, Springer, Berlin, 1970.
- [17] W. Andlauer, M.J. Martena, P. Fürst, *J. Chromatogr. A* 849 (1999) 341–348.
- [18] *Guidance for Industry: Bioanalytical Method Validation*, FDA, 2001.

**MANUSCRITO: Validação de Método de Cromatografia Líquida para Análise de  
Compostos Fenólicos Presentes no Produto Seco por  
Aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri***

---

Artigo em preparação para ser submetido ao periódico *Journal of Pharmaceutical  
and Biomedical Analysis*

VALIDAÇÃO DE MÉTODO DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA PARA ANÁLISE DE COMPOSTOS FENÓLICOS PRESENTES NO PRODUTO SECO POR ASPERSÃO (PSA) DE *PHYLLANTHUS NIRURI*

DE SOUZA, T.P.; PETROVICK, P.R.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia/UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Avenida Ipiranga, 2752, Porto Alegre, RS 906010-000, Brasil.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi verificar a adequação do método de cromatografia líquida de alta eficiência, empregado na quantificação de polifenóis em soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri*, previamente validado por DE SOUZA e col. (2002), na análise dos polifenóis presentes no produto seco por aspensão (PSA) obtido a partir dessa espécie vegetal. O método foi validado quanto a linearidade, precisão intermediária, repetibilidade e ensaio de exatidão. Os cromatogramas evidenciaram que o produto seco por aspensão apresentou perfil cromatográfico qualitativamente semelhante à solução extrativa. Os parâmetros de validação evidenciaram que o método apresentou adequada linearidade, com coeficiente de regressão acima de 0.999 para as três substâncias analisadas, ou seja, ácido gálico, substância 2 e substância 3 (ainda não identificadas). A repetibilidade e a precisão intermediária mostrou baixo coeficiente de variação. O ensaio de exatidão evidenciou que o método em estudo permitiu uma recuperação de mais de 99 % do ácido gálico presente na amostra, o que sugere não haver no produto seco por aspensão de *Phyllanthus niruri* produtos que possam interferir no doseamento dessa substância.

Palavras chaves: produto seco por aspensão, CLAE, *Phyllanthus niruri*, polifenóis



## 1. INTRODUÇÃO

Para o desenvolvimento de um medicamento fitoterápico é condição fundamental a disponibilidade de métodos analíticos que permitam a identificação e quantificação da constituição química vegetal em todas as etapas de processamento, de modo a garantir a qualidade e eficácia terapêutica do produto final (BRASIL, 2000). No entanto, o estabelecimento de métodos analíticos para o controle de qualidade de fitoterápicos esbarra no problema de este ser uma matriz complexa, onde a existência de várias substâncias, associadas ou não, dificultam a análise e a quantificação do produto (BONATI, 1991).

O produto seco por aspensão de *Phyllanthus niruri* foi desenvolvido com a finalidade de obtenção de um produto intermediário com definidas características físico-químicas, visando o emprego na elaboração de uma forma farmacêutica sólida (SOARES, 1997). Porém, apesar de ser um produto padronizado, continua sendo uma matriz complexa, contendo além das substâncias químicas presentes no extrato original, adjuvantes farmacêuticos, os quais podem representar mais um ponto crítico para o estabelecimento de um método analítico.

Sendo assim, apesar da literatura registrar um método analítico validado para soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri* (DE SOUZA e col., 2002) seria interessante que a metodologia tivesse aplicação em todo o ciclo tecnológico. Portanto, considerando a presença de novos componentes, adjuvantes farmacêuticos, na matriz analítica vegetal, este trabalho tem por objetivo verificar a adequação do método de quantificação de polifenóis por CLAE na análise do produto seco por aspensão de *P. niruri*, a fim de garantir a reprodutibilidade dos resultados e o estabelecimento de limites de aceitação através da aplicação de testes de precisão e exatidão (MARTIN-SMITH e RUDD, 1988; ICH, 1996).

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Matéria-prima

O produto seco por aspersão foi obtido baseando-se na metodologia desenvolvida por SOARES (1997).

### 2.2 Equipamento

Cromatógrafo líquido Shimadzu (LC –10 AD) equipado com controlador de gradiente (FCV – 10 AL), injetor automático (SIL-10 A) e detector de UV/VIS (SPD – 10 A) controlado por software (CLASS LC – 10).

### 2.3 Reagentes químicos

Acetonitrila (grau HPLC, Merck, Darmstadt, Alemanha), ácido ortofosfórico (Merck, Darmstadt, Alemanha) e água ultrapura Milli – Q (Millipore, Bedford, USA) foram utilizados como fase móvel. Ácido gálico (Reag. Ph. Eur., Merck, Darmstadt, Alemanha) foi utilizado como padrão externo.

### 2.4 Condições cromatográficas

A metodologia utilizada foi desenvolvida por DE SOUZA e col. (2002) e consta de sistema gradiente de separação. Como fase móvel A foi utilizado ácido fosfórico 1 % (m/m) e como fase móvel B, uma mistura de acetonitrila:ácido fosfórico 1% (m/m) na proporção 50:50 (v/v). O sistema gradiente utilizado foi de 22 – 24 % de B durante 7 minutos, 24 – 40 % de B por 10 minutos, 40 – 100 % B por 8 minutos, 100 – 22 % por 15 minutos, 22 % de B por 20 minutos. Foi utilizado fluxo de 0.6 ml/min com volume de injeção de 20 µl/ml e detecção em comprimento de onda de 275 nm.

### 2.5 Validação de metodologia analítica (ICH, 1996)

#### 2.5.1 Curva de padronização do ácido gálico

Amostra de 10,0 mg, exatamente pesada, de ácido gálico foi dissolvida em 100,0 ml de água destilada. Aliquota de 10,0 ml desta solução foi diluída com água destilada para 100,0 ml para constituir a solução SD1. Aliquotas de 0,5; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 e 10,0 ml da SD1 foram diluídas em balões de 25,0 ml com acetonitrila:água

(20:80 v/v) de modo a resultarem em concentrações finais de 0,2; 0,8; 1,6; 2,4; 3,2 e 4,0 µg/ml de ácido gálico.

### 2.5.2 Curva de calibração do PSA

Amostra de 73,8 mg de PSA, exatamente pesada, correspondente a 49,68 mg de extrato seco vegetal, foi dissolvida em 100,0 ml de água destilada, agitando-se sob proteção da luz por período de 2 horas. A partir desta solução, alíquotas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e 5,0 ml foram diluídas, em balões de 25,0 ml, com acetonitrila:água (20:80 v/v) de modo a resultarem em concentrações finais de 29,52; 59,04; 88,56; 118,08 e 147,60 µg/ml de PSA. Este procedimento foi repetido em três dias consecutivos.

### 2.5.3 Repetibilidade

Foi avaliada através da análise de solução de PSA com concentração de 88,56 µg/ml, correspondente ao ponto central da curva de calibração, sendo analisadas três réplicas com três injeções cada. O resultado foi expresso como coeficiente de variação.

### 2.5.4 Precisão intermediária

Foi avaliada através de análise de solução de PSA com concentração de 88,56 µg/ml, escolhida a partir da curva de calibração, preparada e analisada em três dias diferentes. O resultado foi expresso como coeficiente de variação.

### 2.5.5 Exatidão

A exatidão foi avaliada através da recuperação do ácido gálico adicionado à solução com concentração de 59,04 µg/ml de PSA. O estudo de recuperação foi realizado com três concentrações de ácido gálico (0,4; 0,8 e 1,2 µg/ml). Soluções controles de PSA e ácido gálico foram analisadas, paralelamente. A exatidão foi calculada através da equação abaixo (1):

$$\text{exatidão} = \frac{\text{CME}}{\text{CT}} \times 100 \quad (1)$$

Onde: CMT = concentração média experimental (concentração medida) e CT = concentração teórica (concentração de ácido gálico presente na solução de PSA + concentração da solução de referência de ácido gálico).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método de cromatografia líquida de alta eficiência empregado para o doseamento de polifenóis presentes no produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* foi o mesmo desenvolvido e, previamente, validado por DE SOUZA e col. (2002) para a análise da solução extrativa desta espécie vegetal, porém, devido à presença do adjuvante de secagem e considerando o possível aumento dos teores das substâncias medidas, em virtude da operação de concentração da solução extrativa (HATANO e col., 1986), faz-se necessária uma avaliação da adequação do método para análise do PSA. Assim, os parâmetros de validação metodológica foram novamente avaliados.

No perfil cromatográfico do produto seco por aspersão (figura 1) não foi evidenciado nenhuma alteração dos polifenóis presentes.

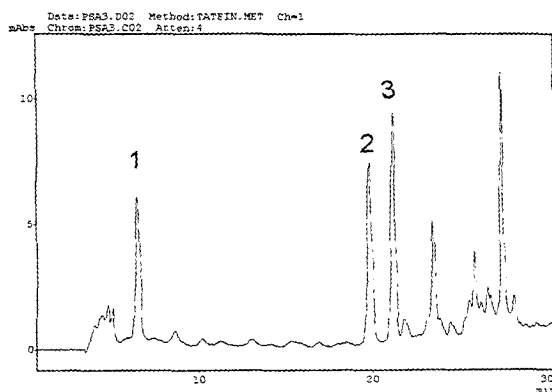


Figura 1: perfil cromatográfico do produto seco por aspersão de *P. niruri*. Ácido gálico (1), substâncias não identificadas (2) e (3)

O primeiro parâmetro analisado foi a linearidade. A curva de calibração foi construída de modo que cada ponto analisado tivesse a mesma concentração, em termos de resíduo seco, que a solução extrativa. Para a análise do PSA por CLAE, fez-se necessária a dissolução do mesmo em água, sob agitação por um período de 2 horas. A necessidade da agitação pode ser explicada por uma possível interação dos taninos com o dióxido de silício coloidal durante a operação de secagem por aspersão (MARTINS, 1997). A agitação pode favorecer o desmonte das possíveis interações dos polifenóis com o adjuvante presente no produto em análise. Esse fato foi observado ao construir a primeira curva da calibração do PSA, uma vez que com a simples dissolução do mesmo em água, com rápida agitação, notou-se perda da linearidade entre as concentrações analisadas. No entanto, após a repetição do experimento com agitação prolongada, todas as curvas analisadas apresentaram comportamento linear, com coeficiente de regressão ( $r^2$ ) maior que 0,999 (Tabela 1 e figura 2).

Tabela 1: parâmetros de linearidade para substâncias presentes no PSA de *P. niruri*

Substâncias	$r^2$	Equação da reta	CV %*
1 (ácido gálico)	0,9999	$y = 1167,7x - 896,94$	1,31
2	0,9999	$y = 1630,28x - 1639,7$	1,82
3	0,9999	$y = 1850,39x - 3211,1$	2,34

\* CV% da inclinação da reta em três dias consecutivos

Na figura 2 podem ser visualizadas as curvas de calibração dos 3 picos presentes no PSA, considerando, em conjunto, os três dias de análise. A avaliação da dispersão dos valores da inclinação das retas demonstrou um baixo coeficiente de variação percentual (CV < 2,5 %) para todos os picos analisados.

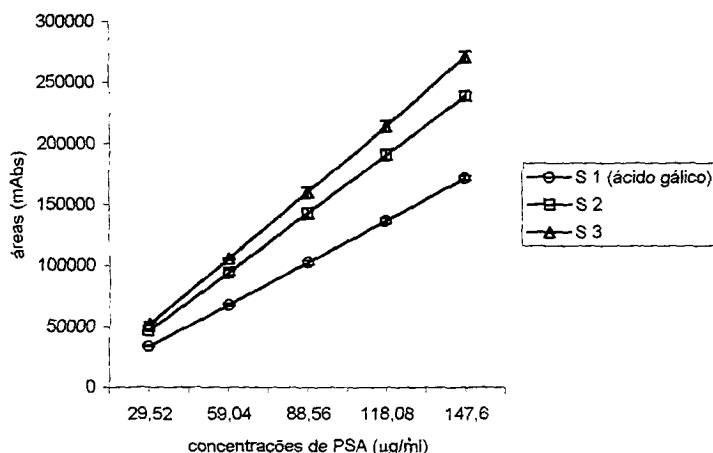


Figura 2: curvas de calibração dos picos presentes no PSA de *P. niruri*

A análise dos resultados dos ensaios de repetibilidade e precisão intermediária do PSA de *P. niruri* (Tabela 2) mostrou coeficientes de variação, menores que 3 % para ambos os ensaios, o que demonstra boa reprodutibilidade do método para a análise dos polifenóis no PSA.

Tabela 2: repetibilidade e precisão intermediária do PSA de *P. niruri*. Valores de áreas (mAbs)

Substâncias	Repetibilidade $\bar{x} \pm s$ (CV %)	Precisão intermediária $\bar{x} \pm s$ (CV %)
S1 (ácido gálico)	102896 $\pm$ 539,90 (0,52)	102611,5 $\pm$ 1946,373 (1,90)
S2	144858,3 $\pm$ 1133,494 (0,78)	143005,6 $\pm$ 4359,323 (3,05)
S3	163982,2 $\pm$ 962,224 (0,59)	160297,4 $\pm$ 4330,58 (2,70)

Para realização do ensaio de exatidão foi construída curva de calibração da substância de referência (ácido gálico). As concentrações analisadas apresentaram

comportamento linear resultando na equação da reta de  $y = 91622x - 5,0022$ , com  $r^2$  de 0,9998.

Na tabela 3 estão descritos os resultados de recuperação do ácido gálico no PSA de *P. niruri*, demonstrando uma recuperação média de 99,94 % com CV % abaixo de 1 %, em todas as concentrações analisadas. De acordo com o protocolo estabelecido, os resultados revelam que o adjuvante de secagem presente no PSA de *P. niruri* não interferiu no doseamento do ácido gálico.

Tabela 3: resultado do ensaio de exatidão do ácido gálico

Concentração teórica (µg/ml)	Concentração experimental média (µg/ml) $\bar{X} \pm s$	Recuperação (%) $\bar{X}$ (CV%)
1.1749	1,1757 ± 0.008	100,07 (0,72)
1.5946	1,5941 ± 0.001	99,98 (0,06)
2.0417	2,0369 ± 0.001	99,77 (0,05)

Comparando-se os teores de polifenóis presentes no produto seco por aspersão (PSA) e na solução extrativa aquosa de *Phyllanthus niruri* (Tabela 4), verifica-se que o PSA apresentou um teor dessas substâncias consideravelmente superior que na solução extrativa. O aumento foi de, aproximadamente, na ordem de 124, 67 e 45 % das substâncias 1, 2 e 3, respectivamente. O que pode ser explicado pelo fato da solução extrativa, que deu origem ao PSA, ter passado por um processo de concentração, ficando exposta à temperatura de 70 °C por um período de cerca de 12 horas. Estudos<sup>7</sup> revelaram que o aquecimento da solução extrativa provoca um considerável aumento nos teores das substâncias medidas, e pode ser justificado por uma possível despolimerização dos polifenóis com a liberação de monômeros e dímeros (HATANO e col., 1986). Dessa forma, os resultados do teores de polifenóis no PSA superiores aos da solução extrativa eram, previamente, esperados.

<sup>7</sup> DE SOUZA, T.P. tese de doutorado. capítulo 4.

Tabela 4: teor de polifenóis presente na solução extrativa (SE) e produto seco por aspersão (PSA) de *P. niruri*

Produtos	Polifenóis (mg/g)		
	S1 (Ácido gálico) $\bar{X}$ (CV%)	S2 $\bar{X}$ (CV%)	S3 $\bar{X}$ (CV%)
SE <sup>1</sup>	8,17 (1,79)	15,44 (2,26)	20,13 (1,84)
PSA <sup>2</sup>	18,37 (0,58)	25,73 (0,77)	29,08 (0,58)

<sup>1</sup>considerando o resíduo seco, <sup>2</sup>descontando os 30 % de aerossil

#### 4. CONCLUSÃO

O método analítico por CLAE desenvolvido para quantificação de polifenóis presentes na solução extrativa aquosa de *P. niruri* foi, igualmente, eficiente na quantificação dessas substâncias no produto seco por aspersão. O método foi validado mostrando linearidade e apresentando coeficientes de variação inferiores a 3,05 % tanto para o ensaio de precisão intermediária como de repetibilidade. A elevada recuperação do ácido gálico, substância de referência, no ensaio de exatidão demonstrou que o adjuvante de secagem presente no produto seco por aspersão não interferiu no método de análise.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

BONATI, A. How and Why Should we Standardize Phytopharmaceutical Drugs for Clinical Validation?. **Journal of Ethnopharmacology**, v.32, p. 195-197, 1991.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução de Diretoria Colegiada nº 17 de 24 de fevereiro de 2000. Regulamenta o registro de produtos fitoterápicos no Brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 25. fev. 2000.

DE SOUZA, T.P.; HOLZSCHUH, M.H.; LIONÇO, M.I.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Validation of a LC Method for the analysis of Phenolic Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial Parts. **Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 351-356, 2002.



HATANO, T.; HATTORI, S.; OKUDA, T. Tannins of *Coriaria japonica* A. Gray. I. Coriariins A e B, New Dimeric and Monomeric Hydrolyzable Tannins. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n.10, p. 4092-4097, 1986.

INTERNATIONAL Conference on Harmonization (ICH) **Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology**. Rockville: FDA, 1996.

MARTINS, A.G. **Influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológica de extratos secos de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

MARTIN-SMITH, M.; RUDD, D.R. Validation of Analytical Methods. **Analytical Proceedings**, v.25, p. 154-155, 1988.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

## 6. AGRADECIMENTOS

Ao suporte financeiro fornecido pelo CNPq.

**CAPÍTULO 4 – Obtenção de Produto Seco por Aspersão de *Phyllanthus niruri*  
em Escala semi-industrial e Desenvolvimento de Granulados a  
partir desse Produto**

---

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as técnicas de secagem empregadas na preparação de produtos secos, a secagem por aspersão tem sido utilizada com sucesso na indústria de fitoterápicos, principalmente, pelas características físicas, químicas e tecnológicas que conferem ao produto final. Além disso, possibilita a preparação de produtos pulverulentos com características definidas, como tamanho e forma de partículas, que também podem ser pré-determinadas. Os produtos obtidos por este tipo de secagem possuem, dependendo dos adjuvantes e da técnica de preparação, a propriedade de reconstituição instantânea em água, característica, freqüentemente, ausente em produtos secos obtidos por outro meio de secagem. Outra vantagem é o reduzido tempo de contato do produto a secar com a fonte calorífica, limitando os fenômenos de termodegradação (MASTERS, 1978; NIELSEN, 1982; JACOB e col., 1984; BRODHEAD e col., 1992).

A secagem por aspersão tem sido amplamente empregada na pesquisa e desenvolvimento de formas farmacêuticas, principalmente, porque os sólidos obtidos podem ser incorporados diretamente em granulados, comprimidos, cápsulas, pomadas, bem como, serem utilizados como forma farmacêutica final (CAMPOS, 1996; GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995; COUTO, 2000, SOARES, 2002).

Os extratos secos vegetais, quando produzidos por esta técnica de secagem, apresentam, geralmente, forma de partícula esférica, característica favorável à obtenção de formas farmacêuticas com homogeneidade de distribuição dos constituintes (GAUDY, 1991). No entanto, geralmente, possuem reduzido tamanho de partícula e elevada higroscopia, características que dificultam a obtenção de formas farmacêuticas sólidas. Uma estratégia para sobrepor o problema da baixa granulometria é a granulação.

Assim, o presente capítulo tem como objetivos o desenvolvimento de um produto seco por aspersão (PSA) em torre de secagem em escala semi-industrial, bem como realizar estudos para o desenvolvimento de um granulado com características tecnológicas adequadas para obtenção de comprimidos contendo alto teor de PSA de *Phyllanthus niruri*.

**MANUSCRITO: Obtenção de Produto Seco por Aspersão de *Phyllanthus niruri*  
em Escala Semi-Industrial**

---

Artigo em preparação para ser enviado ao periódico *Acta Farmacéutica Bonaerense*

## OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE PRODUTO SECO POR ASPERSÃO DE *PHYLLANTHUS NIRURI* EM ESCALA SEMI-INDUSTRIAL

DE SOUZA, T.P.; PETROVICK, P.R.

Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

### RESUMO:

O presente trabalho descreve o desenvolvimento e caracterização de um produto seco por aspersão a partir de solução extrativa aquosa de *Phyllanthus niruri*, utilizando torre de secagem semi-industrial. A caracterização físico-química do produto foi realizada de modo a identificar suas propriedades tecnológicas comparando-as com as características de produtos secos obtidos em escala laboratorial. Um estudo de estabilidade química, submetendo a solução extrativa aquosa a uma temperatura de 70 °C por 24 horas, foi realizado com a finalidade de verificar uma possível degradação das substâncias químicas presentes no extrato. O estudo foi monitorado através de cromatografia líquida de alta eficiência. O PSA obtido apresentou características tecnológicas consideravelmente melhores que o PSA produzido em escala laboratorial, no entanto, continua apresentando elevada higroscopia. O estudo de estabilidade demonstrou que temperaturas elevadas parecem causar uma despolimerização de polifenóis de alto peso molecular liberando monômeros e dímeros, os quais apareceram em maior quantidade no PSA originado de uma solução extrativa concentrada a 70 °C por um período de 12 horas.

**PALAVRAS CHAVES:** produto seco por aspersão, *Phyllanthus niruri*, polifenóis

## 1. INTRODUÇÃO

A secagem por aspersão, *spray-drying*, tem sido amplamente utilizada na indústria farmacêutica. Particularmente, no desenvolvimento de fitomedicamentos tem um emprego bastante satisfatório, uma vez que permite a obtenção de produtos intermediários com maior concentração de constituintes químicos, facilidade de manuseio e melhor estabilidade tecnológica quando comparados aos extratos líquidos e moles (BASSANI, 1990; GAUDY e col., 1991; SOARES, 2002).

Esta técnica de secagem conduz à obtenção de produtos com baixo risco de degradação dos constituintes químicos durante a operação, dado o curto tempo de contato entre o produto a ser seco e a fonte de calor, o que representa uma grande vantagem desta técnica quando comparadas a outras técnicas de secagem que utilizam calor (BROADHEAD e col., 1992). Outra vantagem é a obtenção de produtos sob a forma de partículas esféricas de alta dissolução, o que é favorável para a obtenção de uma forma farmacêutica sólida. No entanto, geralmente apresentam como desvantagem reduzido tamanho de partícula e elevada higroscopia, características não favoráveis para um posterior processamento tecnológico (GAUDY e col., 1991). A utilização de adjuvantes de secagem, o aumento do teor de sólidos presentes no produto a ser seco, bem como o próprio desenho do sistema de aspersão são alternativas que podem contribuir para a melhoria das características tecnológicas dos produtos secos obtidos (FOSTER e LEATHERMAN, 1995).

*Phyllanthus niruri* é espécie vegetal com atividade terapêutica comprovada, cujo processamento tecnológico para obtenção de uma forma farmacêutica sólida vem sendo amplamente estudada. Porém, até o momento, o PSA desenvolvido apresenta deficientes características reológicas (SOARES, 1997; COUTO, 2000).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi, utilizando um equipamento de secagem semi-industrial e aumentando o teor de sólidos presentes na solução a secar, verificar a possibilidade de melhorar as características tecnológicas do produto obtido.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1 Matéria-prima**

Como matéria-prima vegetal foram utilizadas as partes aéreas de *Phyllanthus niruri* constituídas, ponderalmente, de 80 % de folhas e 20 % de ramos, adquiridas da empresa Quimer Comercial Ltda (São Paulo).

Como adjuvante farmacêutico foi utilizado o dióxido de silício coloidal (Aerosil® 200) (Degussa/São Paulo) sem tratamento prévio.

### **3. Desenvolvimento de produto seco por aspersão em escala semi-industrial**

#### **3.1 Obtenção da solução extrativa**

O produto seco por aspersão foi produzido a partir de uma solução extrativa aquosa de *Phyllanthus niruri* 7,5 % (m/V), seguindo protocolo estabelecido por SOARES (1997), com modificações.

A solução extrativa (SE) foi preparada em percolador de aço inoxidável (Globo Inox), através de decocção a 100 °C da droga vegetal por um período de 15 minutos. Após resfriamento a micela foi filtrada com auxílio de filtros de velas (Sulinox Ltda). Foi preparado um único lote de 300 litros de solução extrativa.

#### **3.2 Estudo da estabilidade química da solução extrativa à temperatura de 70 °C**

Amostras de 100,0 ml, exatamente pesadas de solução extrativa de *P. niruri*, foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar, com tampa de rosca, e submetidas em banho de água, à temperatura de 70 °C, por um período de 24 horas. Alíquotas de 2,0 ml foram retiradas para análise nos tempos 0, 3, 6 e 24 horas de iniciado o experimento, pesando-se o frasco para verificar a perda de água por evaporação. As análises foram realizadas em CLAE conforme metodologia validada (DE SOUZA e col., 2002) para solução extrativa aquosa de *P. niruri*, sendo determinado o teor de polifenóis presentes em uma amostra com concentração de solução extrativa de 4,8 µl/ml.

### **3.3 Concentração da solução extrativa de *P. niruri***

A solução extrativa foi concentrada em concentrador a vácuo, por um período aproximado de 12 horas, a uma temperatura de 70 °C, para redução de 11 vezes do volume inicial.

### **3.4 Caracterização da solução extrativa concentrada (SEC)**

#### **3.4.1 Determinação de resíduo seco**

Aliquota de 20,0 ml da solução extrativa foi exatamente pesada, diretamente, em pesa-filtro, previamente tarado, e evaporada até secura em banho de água, sob agitação ocasional (BÖHME e HARTKE, 1976). Após evaporação da solução extrativa, o pesa-filtro contendo o resíduo foi colocado em balança munida de sistema de secagem por infravermelho nas seguintes condições de operação: nível de sensibilidade de 120 e temperatura de 105 °C, com intervalo de 10 min entre cada determinação. O resultado expressa a média de seis determinações.

#### **3.4.2 Análise qualitativa em cromatografia de camada delgada**

A análise qualitativa foi realizada utilizando, para identificação de flavonóides, o sistema cromatográfico acetato de etila:acetona:ácido acético:água (60:20:5:5), eluído sobre gel de sílica F<sub>254</sub>. A revelação das manchas foi através da pulverização de solução metanólica de reagente Natural-A a 0,3 % (m/v) seguida de solução etanólica de polícol 400 a 0,5 % (v/v) e visualização sob luz ultravioleta em 365 nm. Para identificação de taninos utilizou-se o sistema acetato de etila:ácido fórmico:água (95:5:5 v/v) eluído sobre gel de sílica F<sub>254</sub>, a revelação das manchas foi feita através de solução de vanilina clorídrica a 1 % seguida de aquecimento da placa, em estufa, a 110 °C por 10 min.

#### **3.4.3 Análise microbiológica**

Foi realizada utilizando-se meio de cultura ágar caseína-soja, para identificação de bactérias e meio de cultura ágar Sabouraud-dextrose, para identificação de fungos e leveduras (WHO, 1998).



### 3.5 Obtenção do produto seco por aspersão (PSA)

Após concentração da solução extrativa, o produto seco por aspersão foi produzido em torre de secagem Production Minor dotada de aspersor rotatório, adicionando-se, como adjuvante de secagem, a proporção ponderal de 30 % de dióxido de silício coloidal (Aerosil 200) calculado sobre o resíduo seco da SEC. As condições de secagem estão descritas na tabela 1.

Tabela 1: condições da operação de secagem por aspersão

Parâmetros	Valor
Temperatura de entrada (°C)	177,2 ± 1
Temperatura de saída (°C)	99,3 ± 1
Velocidade do aspersor (rpm)	10900
Bomba de alimentação (ml/min)	143
Diferença de pressão ( $\Delta p$ )	125

A SEC foi mantida sob agitação constante durante toda operação de secagem, a fim de garantir homogeneidade ao produto final. O PSA resultante foi acondicionado em frascos de polietileno opacos e armazenados em dessecadores contendo gel de sílica com indicador de umidade.

### 3.6 Caracterização do produto seco por aspersão

#### 3.6.1 Determinação do rendimento da operação de secagem

O rendimento foi obtido através da diferença entre a massa teórica de sólidos solúveis e do adjuvante de secagem presente na solução extrativa e a massa do produto seco por aspersão obtido.

#### 3.6.2 Determinação da perda por dessecação (CARVALHO, 1997)

A perda por dessecação foi determinada em balança de secagem por infravermelho (Mettler CP 16). Cerca de 500 mg, exatamente pesados, da amostra foram colocados em pesa-filtro, previamente tarado, e dessecados nas seguintes condições de secagem: nível de sensibilidade de 120 e temperatura de 105 °C.

### **3.6.3 Análise qualitativa em cromatografia de camada delgada**

Foi realizada utilizando os mesmos sistemas cromatográficos descritos no item 3.4.2.

### **3.6.4 Análise granulométrica e determinação dos parâmetros granulométricos (LANTZ, 1989; LIEBERMAN e col., 1989)**

A avaliação granulométrica foi realizada em microscópio óptico, considerando o diâmetro de Feret, através da contagem de, no mínimo, 500 partículas. A leitura foi efetuada em objetiva de 10x, sendo o pó disperso a seco sobre a lâmina. Os parâmetros diâmetro médio e amplitude de distribuição foram determinados através de método gráfico.

### **3.6.5 Análise das partículas em microscopia eletrônica de varredura.**

A avaliação da forma e estrutura das partículas foi efetuada utilizando microscópio eletrônico de varredura (Jeol – JSM 5800), após metalização da amostra em metalizador Jeol Jee 4B (JVG-IN).

### **3.6.6 Determinação de fluxo (GUYOT e col., 1995; CARVALHO, 1997).**

Foi determinado através do escoamento dinâmico utilizando equipamento dotado de módulo de descarga automática obedecendo à Ph. Eur. (1997). A velocidade de fluxo foi calculada através de análise gráfica e da razão entre a massa e o tempo de escoamento total da amostra.

### **3.6.7 Determinação das densidades brutas e de compactação, fator de Hausner, índice de Carr e de densificação (CARR, 1965; VOIGT, 1993; GUYOT e col., 1995; PECK e col., 1989).**

Os volumes brutos e de compactação foram medidos em volúmetro de compactação, onde 10 g do pó, exatamente pesados, foram vertidos numa proveta de 25 ml (volume bruto =  $V_b$ ) e submetidos a 10 ( $V_{10}$ ), 500 ( $V_{500}$ ) e 1250 quedas seqüenciais (DIN 5394). O ensaio foi continuado em seqüências de 1250 quedas até que a diferença entre duas leituras subseqüentes fosse inferior ou igual a 0,1 ml,

sendo este considerado como volume de compactação ( $V_c$ ). A partir dos dados obtidos neste ensaio foram calculados as densidades brutas e de compactação, o fator de Hausner, índice de Carr e de densificação, segundo as equações 1, 2 e 3, respectivamente. Os resultados do índice de densificação foram extrapolados para massa de 100 g, conforme recomendado pela literatura.

$$FH = \frac{dc}{db} \quad (1)$$

$$IC = \frac{db - dc}{dc} \times 100 \quad (2)$$

$$ID = V_{10} - V_{500} \quad (3)$$

onde: FH = fator de Hausner; db = densidade bruta (g/ml); dc = densidade de compactação (g/ml); IC = índice de Carr; ID = índice de densificação;  $V_{10}$  = volume do pó após 10 quedas (ml);  $V_{500}$  = volume do pó após 500 quedas (ml).

### 3.6.8 Análise microbiológica

Foi realizada conforme item 3.4.3

### 3.6.9 Avaliação do comportamento em atmosfera com umidade controlada (CASADEBAIG, 1987; GAUDY e col., 1991)

Foram utilizadas soluções saturadas, com resíduo sólido, de fosfato dibásico de sódio hepta-idratado e nitrito de sódio, colocadas em dessecadores, a fim de obter as umidades relativas (UR) de 34 e 65 %, respectivamente. Amostras de 500 mg, exatamente pesados, do PSA foram colocadas em pesa-filtros, previamente tarados, e armazenadas em dessecadores. Os resultados das isotermas de sorção foram obtidos através da determinação da alteração gravimétrica das amostras, nas primeiras 24 e 72 horas, e, após, a cada 48 horas, por um período de 14 dias. Foram observadas, também, alterações na aparência do produto. O resultado expressa a média de cinco determinações, utilizando três pesa-filtros vazios como controle.

### 3.6.10 Análise Estatística

A análise estatística foi realizada através de ANOVA, teste de Tukey e teste de t de Student, utilizando o programa estatístico SigmaStat® versão 1.0.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Obtenção da solução extrativa

Um dos fatores que contribui para o tamanho de partícula de um produto seco por aspersão é o teor de sólidos solúveis e/ou suspensos presentes no produto a ser seco. Para se obter um bom rendimento da operação de secagem é necessário que o produto tenha um teor de sólidos mínimo de 10 %, do contrário, as partículas resultantes podem ter tamanho muito reduzido e assim, serem perdidas através do sistema de exaustão (LIST e SCHMIDT, 1989). A solução extrativa de *Phyllanthus niruri*, preparada na relação droga:solvente de 7,5:100 (m/V), apresenta um baixo teor de sólidos, geralmente menor que 2 % (DA SILVA, 1999; COUTO, 2000), sendo uma das estratégias de processo a operação de concentração da SE a fim de aumentar este teor.

Considerando que a concentração da SE seria realizada à temperatura em torno de 70 °C, por um período de tempo dependente do volume de solução extrativa e da concentração final desejada, fez-se necessário um estudo de estabilidade química da SE frente à temperatura. Sendo assim, foi realizado um estudo piloto submetendo-se a SE à temperatura de 70 °C, em banho de água, por um período de 24 horas, onde alíquotas foram analisadas 0, 3, 6 e 24 horas após iniciado o experimento. A análise quantitativa foi realizada por CLAE sendo verificado o perfil cromatográfico, bem como quantificadas as três substâncias majoritárias presentes na SE.

Durante o experimento, observou-se que não houve alteração do perfil cromatográfico da SE (figura 1), não sendo visualizada a presença de picos adicionais ou o desaparecimento dos existentes. No entanto, houve um considerável aumento na concentração dos picos majoritários (figura 2). Comparando-se os resultados das análises da SE mantida à temperatura ambiente (0 h) com a exposta ao calor por um período de 24 horas, verificou-se que houve um aumento nas concentrações do pico 1, 2 e 3.

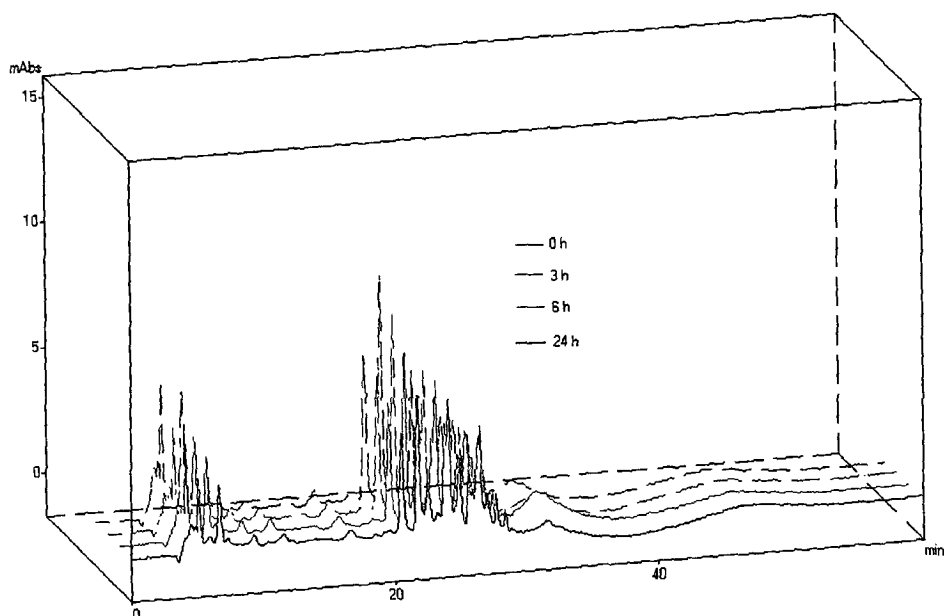


Figura 1: perfil cromatográfico da SE de *Phyllanthus niruri* quando exposta à temperatura de 70 °C.

A literatura registra que temperaturas acima de 55 °C são favoráveis para a despolimerização de taninos hidrolisáveis, liberando ácido gálico e outros taninos de pequeno peso molecular, principalmente na forma monomérica e dimérica (HATANO e col., 1986; MUELLER – HARVEY, 2001). No ensaio de estabilidade realizado com a SE de *P. niruri*, frente à temperatura de 70 °C, observou-se que, de acordo com o tempo de exposição da SE a esta temperatura, houve elevação da concentração do ácido gálico e de dois outros picos presentes na SE de *P. niruri*.

No entanto, se a despolimerização for a justificativa para o fenômeno acima observado, o presente método de análise cromatográfica não foi capaz de quantificar tais polímeros, uma vez que a despolimerização deveria resultar na redução da concentração das substâncias que estão sofrendo tal fenômeno, fato este que não pôde ser observado pelo sistema cromatográfico utilizado.

Os resultados obtidos neste experimento permitem inferir que o PSA de *P. niruri* originado de uma solução extrativa que sofreu concentração à temperatura superior a 70 °C, provavelmente, tenha concentrações de ácido gálico e das substâncias 2 e 3 superiores às da SE de origem.

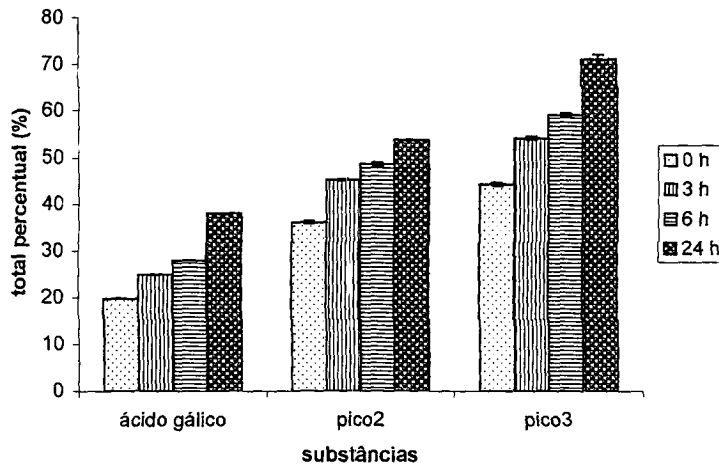


Figura 2: comportamento das substâncias majoritárias presentes na SE de *Phyllanthus niruri*, durante ensaio de estabilidade à 0 h, 3 h, 6 h, e 24 h frente à temperatura de 70 °C

Comparando-se o valor de resíduo seco da solução extrativa obtida em maior escala de produção com a obtida em escala laboratorial (tabela 2), observou-se que, embora não haja diferença estatisticamente significativa (teste "t" de Student  $p > 0,05$ ), a SE obtida na maior escala apresentou resíduo seco inferior.

Tabela 2: comparação entre os resíduos secos da SE obtida em diferentes escalas de produção

Ensaio	SE escala laboratorial $\bar{x} \pm s$ (CV %)	SE escala semi-industrial $\bar{x} \pm s$ (CV %)
Resíduo seco g %	1,67 ± 0,06 (3,44)	1,24 ± 0,0002 (0,16)

A operação de concentração da SE foi realizada em equipamento de maior porte, onde 300 litros de SE foram concentrados até um volume final de 27 litros, o que representou uma redução de cerca de 11 vezes do volume inicial. Após a concentração, a SEC foi submetida, o mais rapidamente possível, à secagem por aspersão, uma vez que, em se tratando de uma solução aquosa poderia favorecer o crescimento de microrganismos (HERBELÉ, 2000). Dessa forma, a SEC foi caracterizada apenas quanto ao resíduo seco, análise qualitativa por cromatografia em camada delgada e análise microbiológica.

A solução extrativa foi concentrada até um teor de sólidos de 13,8 %, a partir do qual foi calculada a quantidade de adjuvante de secagem (Aerosil 200) a ser adicionada.

A análise qualitativa realizada por cromatografia em camada delgada, utilizando os sistemas para flavonóides e taninos, não indicou diferenças visuais entre os perfis das SE antes e após concentração.

A análise microbiológica indicou a presença de 85,5 UFC/ml de bactérias viáveis na SEC, enquanto que na análise de fungos e leveduras não foi verificado crescimento. Os resultados indicam que a operação de concentração, provavelmente, devido ao tempo de contato (12 h) com a elevada temperatura (70 °C), tenha sido responsável por uma redução de 86,9 % no número de UFC em relação à SE de origem, estando de acordo com os níveis microbianos máximos permitidos pela WHO (1998).

#### **4.2 Obtenção do produto seco por aspersão (PSA)**

Para a obtenção do PSA foi adicionado à SEC Aerosil 200, como adjuvante de secagem. Foi calculada a adição ponderal de 30 % do adjuvante sobre o resíduo seco (13,8 %) da SEC, perfazendo um total de sólidos de 19,7 %. No entanto, o Aerosil forma uma dispersão coloidal quando em contato com água e desse modo a SEC tornou-se bastante espessa, dificultando o procedimento de agitação, o que poderia resultar em um PSA não homogêneo. Assim, foram adicionados 6 litros de água à dispersão a fim de facilitar a agitação. Com a adição de água, a dispersão apresentou um teor, teórico, de sólidos de 16,1 %.

O rendimento da operação de secagem da solução extrativa concentrada de *P. niruri* adicionada de Aerosil foi de 94 % (tabela 3), valor consideravelmente superior quando comparado com o rendimento de secagem de 79 % e 82 % obtido por SOARES (1997) e COUTO (2000), respectivamente, em torre de secagem por aspersão em escala laboratorial ( $TSA_{lab}$ ).

O alto rendimento da secagem por aspersão obtido em torre de secagem por aspersão em escala semi-industrial ( $TSA_{sind}$ ) pode ser justificado pelo elevado teor de sólidos presentes na dispersão a ser seca, bem como pelas características inerentes ao próprio equipamento, fato previamente observado por SOARES (2002) que, ao secar, no mesmo equipamento, uma SE de *Maytenus ilicifolia* com um teor de sólidos de 15,86 %, obteve um rendimento de 90,31 %.

O ensaio de perda por dessecação realizado com o PSA (tabela 3) indica que o produto apresentou teor de umidade residual próximo do limite máximo de 4 % estabelecido para extratos secos (F. Bras. IV, 1988), sendo que para produtos com acondicionamento não hermético é permitido um valor de perda por dessecação de até 7 %, (LIST e SCHMIDT, 1989). Comparando-se o teor de umidade residual do PSA obtido na  $TSA_{sind}$  com a umidade de PSA obtida em  $TSA_{lab}$ , verifica-se que, embora haja diferença estatisticamente significativa, tecnologicamente não há grandes variações. Além do que, desconsiderando o fato de que os produtos foram obtidos em condições operacionais distintas, tais diferenças poderiam ser justificadas apenas pelas variações externas de temperatura e umidade.

Tabela 3: comparação dos valores de perda por dessecação (PD % m/m) do PSA de *P. niruri* obtido em diferentes torres de secagem por aspersão

Ensaio	Dado experimental $\bar{x} \pm s$ (CV %)	SOARES (1997)* $\bar{x} \pm s$ (CV %)	COUTO (2000)* $\bar{x} \pm s$ (CV %)
PD (%)	4,01 $\pm$ 0,07 (1,74)	3,65 $\pm$ 0,16 (4,38)	2,99 $\pm$ 0,03 (0,94)

\* PSA obtido em  $TSA_{lab}$

Os produtos secos por aspersão de soluções extrativas apresentam elevada higroscopicidade, necessitando assim, de adequado acondicionamento e rigoroso controle de umidade residual (CARVALHO, 1997; SOARES, 1997; DE SOUZA, 1997; TEIXEIRA, 1996). A análise da umidade residual realizada com o PSA ao



longo do tempo de armazenamento (figura 3), demonstrou que após 9 meses houve um significativo aumento no teor de umidade, no entanto ainda assim encontrava-se abaixo do limite permitido de 7 % para produtos de acondicionamento não herméticos (LIST e SCHMIDT, 1989).

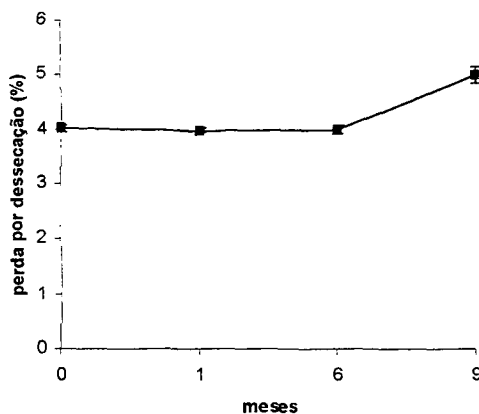


Figura 3: teor de umidade residual no PSA durante armazenamento.

O PSA foi acondicionado em frascos de polietileno opacos e armazenados em dessecadores a fim de reduzir a sorção de água. Porém, a manipulação, ainda que em sala com controle de umidade, pode favorecer a sorção de água. Este ensaio demonstra a necessidade do controle de umidade residual do PSA para garantir a homogeneidade de conteúdo e dosagem dos produtos derivados.

A análise por microscopia eletrônica de varredura demonstra que o PSA se apresenta como partículas esféricas, com superfícies rugosas e ocas (figura 4 e 5), características de produtos secos por aspersão (MASTER, 1978).

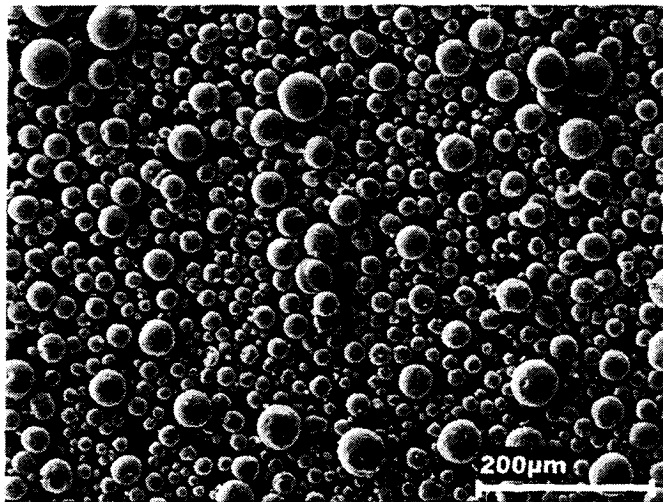


Figura 4: fotomicrografia eletrônica de varredura do PSA (aumento 500 x)

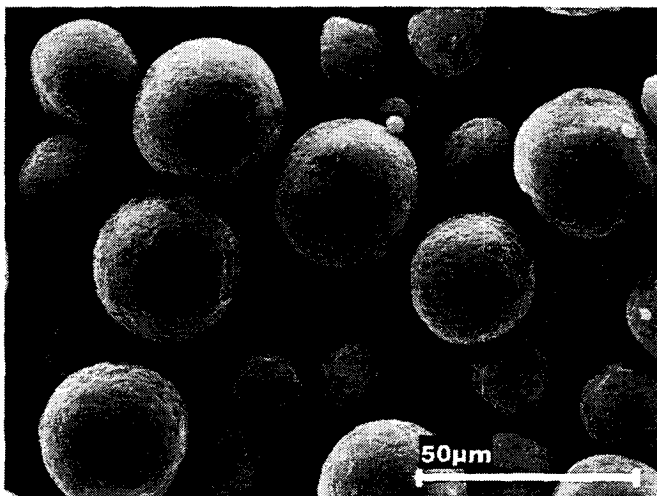


Figura 5: fotomicrografia eletrônica da varredura de PSA (aumento 2500 x)

A distribuição granulométrica do PSA pode ser visualizada na figura 6, observando-se uma distribuição com frequência superior a 10 % na faixa de 3,4 a 20,7 mm.

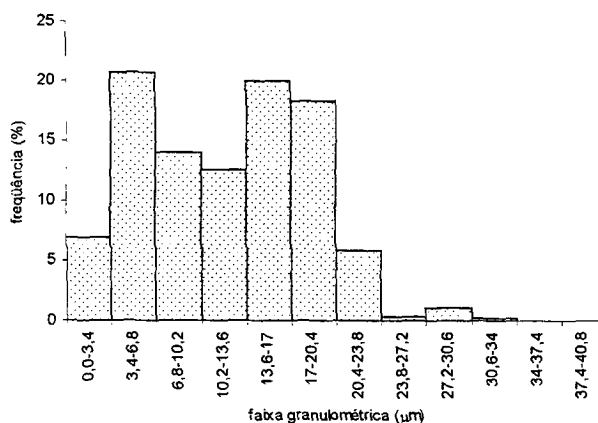


Figura 6: histograma de distribuição granulométrica do produto seco por aspersão de *P. niruri*

Da curva de distribuição granulométrica (figura 7), obtida pela plotagem da frequência acumulada percentual em escala linear no eixo das ordenadas em função do tamanho de partícula em escala logarítmica, foram determinados o diâmetro médio de partícula ( $d_g$ ) e o desvio padrão granulométrico ( $\sigma_g$ ) (WELLS, 1988; LANTZ, 1989).

O diâmetro médio obtido por método gráfico foi de 10,55  $\mu\text{m}$  e o desvio padrão ( $\sigma_g$ ) de  $\pm 1,59 \mu\text{m}$ . Segundo WELLS (1988) estreitas distribuições granulométricas, geralmente apresentam  $\sigma_g$  ao redor de 1,5, enquanto largas distribuições podem apresentar  $\sigma_g \geq 2$ . O PSA de *Maytenus ilicifolia*, desenvolvido, em mesmo equipamento, por SOARES (2002), apresentou um tamanho médio de partícula de 22,36  $\mu\text{m}$  com desvio padrão de  $\pm 1,06$ . Embora esses valores não possam ser comparados diretamente com os obtidos no presente estudo, por serem resultante de métodos diferentes de análises, permitem interpretação semelhante (WELLS, 1988; DE SOUZA, 1999; COUTO, 2000). Assim, os resultados indicam que

os PSA obtidos em equipamento *Niro Production Minor* apresentam estreitas faixas de distribuição granulométrica, com valores de  $\sigma_g < 2$ .

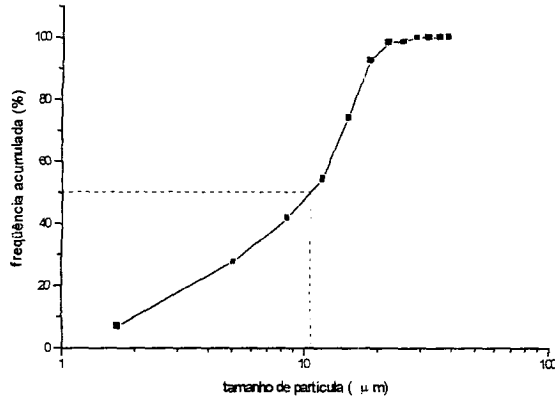


Figura 7: curva de distribuição granulométrica do PSA de *P. niruri*

Comparando-se os tamanhos médios de partículas do PSA de *P. niruri* obtidos em diferentes equipamentos (tabela 4), verifica-se que o produto obtido em  $TSA_{sind.}$  apresentou diâmetro médio, aproximadamente, 10 vezes maior que o produto obtido por SOARES (1997) e cerca de 2,5 vezes maior que o obtido por COUTO (2000), ambos produzidos em  $TSA_{lab.}$ . Estes resultados podem ser justificados tanto pelo teor de sólidos presentes no produto a ser seco como pelo tipo de equipamento utilizado, uma vez que o aumento da viscosidade do fluido de alimentação, assim como o emprego de aspersores rotatórios, tendem a aumentar o tamanho de partícula dos produtos obtidos (MASTER, 1978).

FOSTER e col. (1995), comparando as características do produto obtido em  $TSA_{sind.}$ , aspersor rotatório, com o obtido em  $TSA_{lab.}$ , dotado de bocal pneumático, observaram que o produto produzido no primeiro apresentou tamanho de partícula 3 vezes maior que o produzido em  $TSA_{lab.}$ . Considerando que ambos os produtos originavam-se do mesmo fluido de alimentação, ou seja, com o mesmo teor de sólidos, os autores concluíram que o tipo de aspersor, associado à velocidade de giro no  $TSA_{sind.}$ , bem como, às próprias dimensões do equipamento determinaram as maiores dimensões das partículas obtidas.

Tabela 4: diâmetro médio de partícula e desvio padrão granulométrico de PSA de *Phyllanthus niruri* obtidos em diferentes equipamentos

Ensaio	Dado experimental	SOARES* (1997)	COUTO* (2000)
Diâmetro médio ( $\mu\text{m}$ )	10,55	1,7	4,2
Desvio padrão granulométrico ( $\mu\text{m}$ )	1,56	2,37	2,37

\* PSA de *P. niruri* obtido em TSA<sub>lab</sub>

KOESTER (2003) obteve resultado semelhante ao de FOSTER e col. (1995) ao comparar o tamanho de partículas de produtos obtidos, a partir de solução contendo mesmo teor de sólidos, em TSA<sub>sind.</sub> e TSA<sub>lab.</sub>. O pó produzido em TSA<sub>sind.</sub> apresentou tamanho médio de partícula cerca de 3 vezes maior que o obtido em TSA<sub>lab.</sub>.

Além da diferença no diâmetro médio particular, outro dado interessante é a menor amplitude granulométrica do PSA em estudo, quando comparado com o PSA produzido em TSA<sub>lab.</sub>, o qual apresenta larga amplitude granulométrica. O tamanho médio de partícula e a amplitude de distribuição granulométrica são fatores fundamentais para a formulação de formas farmacêuticas sólidas, influenciando, principalmente a uniformidade de conteúdo de formas farmacêuticas sólidas derivadas e a velocidade de dissolução das mesmas (WELLS, 1988; LIEBERMAN e LACHMAN, 1989).

Do ponto de vista farmacêutico, o tamanho e a forma das partículas que compõem um pó contribuem para as características de fluxo e empacotamento do mesmo, bem como podem fornecer indicação da necessidade de adição de adjuvantes para elaboração de um produto derivado (LIEBERMAN e LACHMAN, 1989; WRAY, 1992). Na tabela 5 estão descritos os parâmetros de empacotamento do PSA.

Tabela 5: parâmetros de empacotamento de produtos secos por aspersão de *P. niruri*

Ensaio	Dado experimental	COUTO (2000)
	A $\bar{x} \pm s$ (CV %)	B $\bar{x} \pm s$ (CV %)
Densidade bruta (g/ml)	0,7901 ± 0,004 (0,51)	0,247 ± 0,005 (2,02)
Densidade de compactação (g/ml)	0,9725 ± 0,008 (0,82)	0,435 ± 0,002 (0,44)
Índice de Carr (%)	18,753 ± 0,293 (1,56)	43,19 ± 1,42 (3,28)
Fator de Hausner	1,23 ± 0,004 (0,32)	1,76 ± 0,044 (2,53)
Índice de densificação (ml)	11,86 ± 0,13 (1,09)	118,7 ± 3,51 (2,96)

A = PSA obtido em TSA<sub>sind</sub>; B = PSA obtido em TSA<sub>lab</sub>

O índice de Carr e o fator de Hausner são parâmetros vinculados à capacidade de empacotamento do pó, considerando-se que valores baixos, menores que 20 %, podem indicar materiais com características de empacotamento mais estáveis, influenciando positivamente na reprodutibilidade de enchimento das câmaras de compressão (CARR, 1965; WELLS, 1988; THOMAS e POU CERLOT, 1991).

O índice de densificação (ID) informa sobre o comportamento do pó, quando submetido à movimentação. Valores superiores a 20 ml sugerem potenciais dificuldades de compactamento durante a compressão, pois significa que qualquer movimentação provocará alteração do volume do pó, condição indesejável no enchimento da câmara de compressão (LANTZ, 1898; GUYOT e col., 1995). O valor de ID obtido para o PSA em estudo sugere que o mesmo apresenta razoáveis propriedades de fluidez.

Como pode ser verificado na tabela 5 as características de empacotamento do PSA obtido em TSA<sub>sind</sub> são notadamente superiores às do PSA obtido em TSA<sub>lab</sub>. Os parâmetros analisados permitem inferir que o PSA obtido em TSA<sub>sind</sub> possui empacotamento mais estável e, provavelmente, melhores propriedades de fluxo. Além disso, o aumento das densidades do pó favorece a formulação de formas farmacêuticas sólidas.

O comportamento de fluxo do PSA foi avaliado através da determinação da velocidade de escoamento dinâmico. Para tal, foi utilizado o funil de descarga com

menor orifício de saída (1,0 cm), observando-se escoamento livre de toda a amostra submetida ao experimento.

Através de análise gráfica (figura 8 e tabela 6) pode ser verificado que o PSA apresentou um fluxo livre e homogêneo, onde 99,98 % do escoamento do pó pode ser explicado pelo modelo de equação linear. Observou-se que com, aproximadamente, 0,13 s houve escoamento total do pó. Os baixos valores das variações dos dados demonstram, também, suas adequadas qualidades de fluxo.

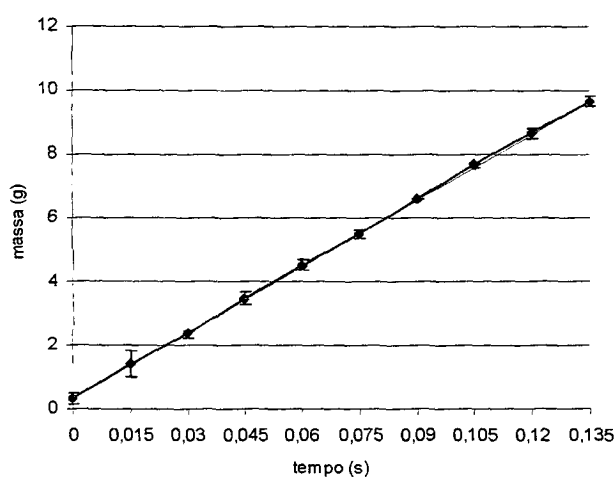


Figura 8: Representação gráfica do escoamento do PSA de *Phyllanthus niruri*

Tabela 6: resultado de comportamento e velocidade de fluxo do PSA de *P. niruri*

Equação da reta	$r^2$	$\overline{\text{VFd}}$ $\bar{x} \pm s$ (CV %)	$\overline{\text{VF}}$ (g/s) $\bar{x} \pm s$ (CV %)
$y = 69,34 x + 0,3346$	0,9998	$69,34 \pm 3,53$ (5,09)	$71,37 \pm 1,16$ (1,63)

VF = velocidade de fluxo calculada pela razão entre massa e o tempo total de escoamento da amostra (n = 3), VFd = velocidade de fluxo calculada diretamente a partir da inclinação da reta (n = 3)

A análise de fluxo do PSA ratifica os parâmetros de empacotamento (tabela 5) do PSA, os quais sugerem bom comportamento de fluxo. As melhoras observadas nas características tecnológicas do PSA de *P. niruri*, obtido em TSA<sub>sind.</sub>,

podem ser justificadas pela considerável elevação do diâmetro médio das partículas que compõe o pó.

A análise microbiológica realizada com PSA demonstrou que, de acordo com a metodologia utilizada, a carga de bactérias (30 UFC/g) e de fungos (56 UFC/g) estava muito abaixo dos limites máximos estabelecidos pela WHO (1998), os quais são de  $10^5$  UFC/g e  $10^3$  UFC/g para bactérias e fungos, respectivamente.

A figura 9 representa a carga de contaminação microbiana encontrada nas matérias-primas e produtos derivados de *P. niruri*, desde a droga vegetal até o PSA.

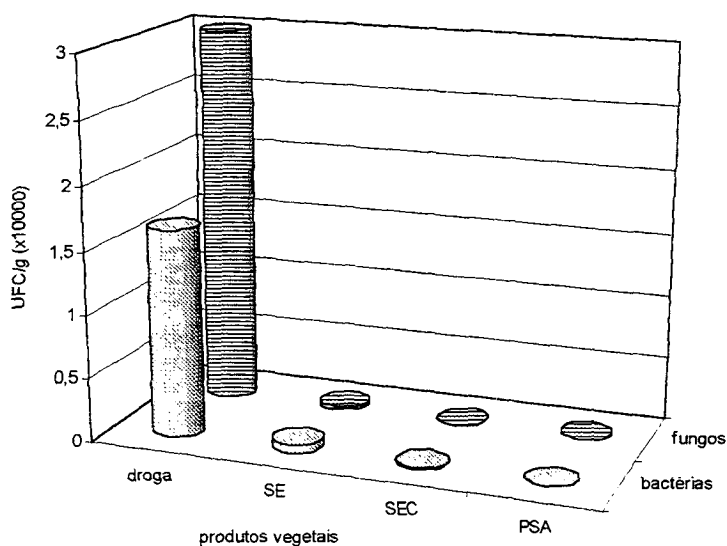


Figura 9: carga microbiana da droga vegetal e de produtos derivados de *P. niruri* (SE = solução extrativa; SEC = SE concentrada e PSA = produto seco por aspersão)

Os derivados de *P. niruri* quando comparados com a droga vegetal (figura 9) apresentaram uma considerável redução no nível de microrganismos. Fato que pode ser explicado pelos processos de extração e concentração, os quais foram realizados a temperaturas elevadas.



O comportamento do PSA frente à exposição a ambientes de atmosfera com umidade relativa (UR) controlada de 34 % e 65 % está representado na figura 10, permitindo inferir sobre possíveis alterações do produto frente às variações normais de umidade do ambiente durante o armazenamento, bem como sobre sua estabilidade física e sua aplicabilidade em diversos procedimentos tecnológicos.

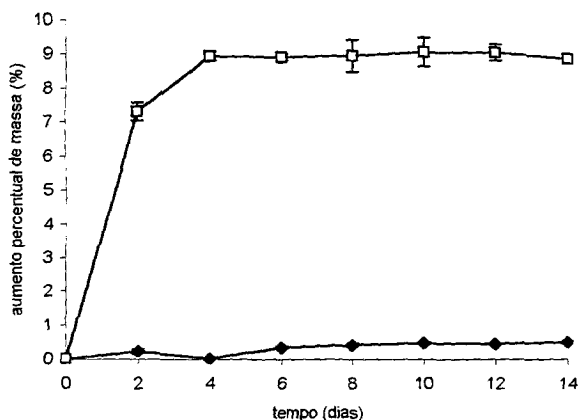


Figura 10: isotermas de sorção do produto seco por aspersão de *P. niruri* em ambiente de atmosfera controlada com umidade relativa de 34 % (♦) e 65 % (□)

Como pode ser verificado na figura 10, o PSA exposto à UR de 34 % manteve a massa, praticamente, constante durante todo o experimento, apresentando uma sorção média de 0,34 % de umidade. Macroscopicamente, não foi observada nenhuma alteração de cor e aspecto do produto. No entanto, quando submetido à UR de 65 % houve um rápido aumento de massa nas primeiras 24 horas, estabilizando-se a partir do quarto dia, após absorver cerca de 8,9 % de seu peso em água. Apesar de não ter sido observada formação de grumos, o PSA, a partir do quarto dia de experimento, apresentou alteração de cor e compactação geral. Comparando-se esse resultado com o relatado por SOARES (1997) para o PSA de *P. niruri* obtido em TSA<sub>lab.</sub>, verifica-se que em UR de 65 %, ambos tiveram

comportamento semelhante, sendo que este último apresentou uma sorção maior de água na faixa de 12 %.

Os resultados demonstraram que embora o método aplicado para obtenção de PSA de *P. niruri* tenha sido efetivo em melhorar suas características tecnológicas, em relação à higroscopia não houve grandes modificações, uma vez que ambientes com elevada umidade continuam provocando alterações nas propriedades físicas do produto. A elevada higroscopia do PSA pode ser decorrente de fatores inerentes à constituição química do produto (BASSANI, 1990; FOSTER e LEATHERMAN, 1995; SCHILLER e col., 2000).

## 5. CONCLUSÃO

A utilização da torre de secagem em escala semi-industrial para secagem da solução extrativa aquosa de *Phyllanthus niruri* permitiu obtenção de um produto seco com melhores características tecnológicas e maior rendimento quando comparado ao produto seco obtido em escala laboratorial. A concentração da SE à temperatura de 70 °C parece provocar um aumento no teor de ácido gálico e substâncias 2 e 3 presentes na solução extrativa de *P. niruri*.

As operações de concentração bem como a secagem por aspersão da SE parecem favorecer a redução da carga microbiana presente na matéria-prima vegetal, uma vez que os produtos obtidos apresentaram carga microbiana inferior aos limites máximos permitidos pela WHO (1998). A produção do PSA em escala semi-industrial apesar de melhorar as características tecnológicas não foi eficiente para reduzir a higroscopia do produto.

## 6. BIBLIOGRAFIA

BASSANI, V.L. **Valorization de formes galéniques végétales desalcoolisation et concentration de solutions extractives sur membrane d'osmose inverse.** Montpellier: Faculté de Pharmacie, 1990. Tese de Doutorado.

BÖHME, H.; HÄRTKE, K. (Hrsgb.). **Europäische Arzneibuch**, Band I und II, Kommentar. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1976.

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

CARR, R. L. Evaluation Flow Properties of Solids. **Chemical Engineering**, v. 72, n.2, p. 163-168, 1965.

CARVALHO, E.L.S. **Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. (espinheira-santa)**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de Mestrado.

CASADEIBAG, J.L. **Realisation d'extraits secs nebulisés. Optimisation de formes galéniques de origine végétale a activité diurétique**. Montpellier: Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, 1987. Tese de Doutorado.

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

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

DE SOUZA, T.P.; HOLZSCHUH, M.H.; LIONÇO, M.I.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Validation of a LC Method for the analysis of Phenolic Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial Parts. **Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 351-356, 2002.

DE SOUZA, K.C.B. **Desenvolvimento de metodologias analíticas e tecnológicas na obtenção de extratos secos nebulizados de *Passiflora edulis* forma**

**flavicarpa**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado

DE SOUZA, T.P. **Influência de adjuvantes farmacêuticos nas características tecnológicas de compactos contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus illicifolia* Martius ex Reiss**. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1999. Dissertação de Mestrado.

DEUTSCHER Institut für Normung (Hrsg.) **DIN 66145 Normen - Partikelmesstechnik**, 3. Aufl., Berlin, Köln: Beuth, 1990.

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

FOSTER, T.P. e LEATHERMAN, M.W. Powder Characteristics of Proteins Spray-Dried from different Spray Dryers. **Drug Development Industry Pharmacy**, v. 21, n. 15, p. 1705-1723, 1995.

GAUDY, D.; PUECH, A.; JACOB, M. Rôle de l'adjuvant dans l'optimisation de la production d'un extrait de noix vomique. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v. 66, n.1, p. 5-10, 1991.

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

HATANO, T.; HATTORI, S.; OKUDA, T. Tannins of *Coriaria japonica* A. Gray. I. Coriariins A e B, New Dimeric and Monomeric Hydrolyzable Tannins. **Chemical Pharmaceutical Bulletin**, v. 34, n.10, p. 4092-4097, 1986.

HERBELÉ, G. Desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Cecropia glazioui* Sneth. (Cecropiaceae). **Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2000. Dissertação de Mestrado.**

KOESTER, L.S. Modulação de liberação de carbamazepina por meio de matrizes poliméricas de hidroxipropilmetilcelulose e betaciclodextrina. **Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2003. Tese de Doutorado.**

LANTZ Jr, R.J. Size Reduction IN: LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2<sup>nd</sup> ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 2, cap. 3.

LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v.3.

LIST, P.H. e SCHIMDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

MASTERS, K. **Spray Drying**. 2 ed., New York: John Wiley, 1978.

MUELLER – HARVEY, I. Analysis of Hydrolysisable Tannins. **Animal Feed Science and Technology**, v. 91, p. 3-20, 2001.

PECK, C.E.; BAILEY, G.J.; McCURDY, V.E.; BANKER, G.S. Tablets formulation and design In: LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v.1, cap. 1.

SCHILLER, M.; VON DER HEYDT, H.; MÄRZ, F.; SCHMIDT, P.C, Determination of carbohydrate content of plant dry extracts and comparison with their water sorption behavior. **Archiv der Pharmazie** , v. 33, (S1/100), p. 27, 2000.

SOARES, L.A.L. **Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek – Celastraceae**. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2002. Tese de Doutorado.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra)**. Porto

Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

TEIXEIRA, H.F. **Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. Dissertação de Mestrado.

THOMAS, C. e POUCELOT, Y. Preformulation of five commercial celluloses in drug development: rheological and mechanical behavior. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 15, p. 1964 - 1974, 1991.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 7. überarb. Aufl., Berlin: Ullstein Mosby, 1993.

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

WORLD Health Organization. **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**. Geneve: WHO, 1998.

WRAY, P.E. The physics of tablets compactation revisited. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 18, n. 6 e 7, p. 627 - 658, 1992.

## 7. AGRADECIMENTOS

A equipe agradece o suporte financeiro fornecido pelo CNPq.

**MANUSCRITO: Desenvolvimento de Granulados a partir de Produto Seco por  
Aspersão de *Phyllanthus niruri***

---

Artigo em preparação para ser encaminhado para publicação, após versão inglesa,  
ao periódico *Pharmazie*

OBTENÇÃO DE GRANULADOS A PARTIR DE PRODUTO SECO POR ASPERSÃO DE *PHYLLANTHUS NIRURI*

DE SOUZA, T.P.<sup>1</sup>; GOMEZ-AMOZA, J.L.<sup>2</sup>; MARTÍNEZ-PACHECO, R.<sup>2</sup>; PETROVICK, P.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil. <sup>2</sup>Departamento de Tecnologia Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela – La Corunã, Spain.

RESUMO:

O objetivo do estudo foi avaliar a viabilidade de obtenção de granulados a partir de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*. Para atingir este objetivo, com auxílio de adjuvantes farmacêuticos, foram estudadas as técnicas de granulação via seca e úmida a fim de verificar qual delas permitiria a obtenção de granulados com melhores características tecnológicas e rendimento operacional. Eudragit E foi utilizado como agente aglutinante para obtenção de granulados por via úmida. Os granulados foram caracterizados quanto à granulometria, parâmetros de compactação e comportamento frente à compressão, bem como quanto à higroscopia. Tecnicamente, ambos granulados, apresentaram tamanho de partícula, densidades bruta e de compactação, e índice de Carr favoráveis ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida. O comportamento frente à compressão demonstrou que os granulados secos sofrem deformação plástica e por fragmentação enquanto que os granulados obtidos por via úmida apresentaram um comportamento predominantemente plástico. Com relação à sorção de umidade, comprando-se os granulados com o PSA, o estudo indicou que os granulados absorveram menos umidade, sendo que os contendo Eudragit E na proporção de 5 % a 10 % foram os menos higroscópicos.

PALAVRAS CHAVES: granulados, produto seco por aspersão, *Phyllanthus niruri*



## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de uma forma farmacêuticas contendo extratos vegetais, normalmente, envolve problemas tecnológicos e de estabilidade, devido à própria natureza dos extratos, os quais carecem de propriedades favoráveis a um processamento farmacêutico, além disso, as substâncias ativas, geralmente estão presentes em baixa concentração o que exige que a forma farmacêutica contenha altas doses do extrato (CRIPPA, 1978; BONATI, 1980).

Os extratos secos vegetais, apesar de serem produtos intermediários com melhor estabilidade e facilidade de manuseio, caracterizam-se por serem pós muito finos. com baixa densidade e alta higroscopia, o que dificulta sua transformação em uma forma farmacêutica sólida (LIST e SHIMDT, 1989; DE SOUZA e col. 2000). No entanto, tais características podem ser melhoradas através da granulação dos mesmos, o que permite o aumento do tamanho de partícula do pó, melhorando a fluidez e características compressionais do produto.

A operação de granulação em si, com exceção da diminuição da área superficial, parece não oferecer maior proteção ao extrato seco (ONUNKWO e UDEALA, 1995). Porém, a adição de adjuvantes farmacêuticos, além de auxiliar no processo de granulação pode funcionar como medida para diminuir a higroscopia do extrato. Como exemplo, pode-se citar o uso de dióxido de silício coloidal ou de resinas acrílicas, tais como o Eudragit, este empregado no revestimento de grânulos (DÍAZ e col., 1996; SOARES, 2003).

Os extratos secos, geralmente, são altamente solúveis em água e, assim, a granulação via úmida fica comprometida e resumida a utilização de solventes orgânicos como líquido de granulação, os quais devem ser escolhidos criteriosamente para evitar reações de degradação do extrato.

Considerando todos esses fatores este trabalho teve por objetivo avaliar a viabilidade de transformação do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* em granulados, através das técnicas de granulação por via seca e por via úmida.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Matéria-prima

O produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* foi produzido em escala semi-industrial baseando-se na metodologia descrita por SOARES (1997).

Os adjuvantes farmacêuticos celulose microcristalina - CMC (Avicel pH 101, FMC corp.), estearato de magnésio - EST (fornecido por C. Bacia S.A.), dióxido de silício coloidal - DSC (Aerosil® 200, Degussa), croscarmelose sódica - CCS (Ac-Di-Sol, fornecido pela Blanver) e Eudragit E100 (RÖHM) foram utilizados como recebidos.

### 2.2 Desenvolvimento dos Granulados

Foi estudado o desenvolvimento de granulados por via seca por desagregação (GRN) e por via úmida (GPU).

#### 2.2.1 Desenvolvimento dos granulados por via seca por desagregação (GRN)

Para o desenvolvimento de granulado contendo alto teor de PSA foram avaliadas as formulações descritas na tabela 1. Os complexos farmacêuticos foram obtidos através da mistura do PSA com os adjuvantes em misturador tipo V a 36 rpm acoplado a motor multiuso (Erweka AR 400). No caso da formulação 1, foi realizada mistura do PSA com o material de carga/enchimento (CMC) por 15 min com posterior adição de lubrificante (EST) e regulador de fluxo (DSC), continuando-se a mistura por mais 5 min. As demais formulações foram obtidas sob as mesmas condições, sendo o lubrificante e regulador de fluxo misturado ao PSA por um período de 5 min.

Os compactos foram obtidos através da compressão direta, de cada formulação, em máquina de comprimir alternativa (Korsch EK-0) equipada com alimentador e dotada de punções simples, circulares, facetados com 15 mm de diâmetro. A granulação dos compactos foi realizada em granulador a seco de rolos sulcados (Erweka tipo TGIIS), seguido de cominuição em granulador oscilatório (Erweka tipo FG). A calibração foi realizada, com auxílio de tamises, visando obter

granulados com distribuição granulométrica abaixo de 1,0 mm e acima de 0,25 mm. As frações menores do que 0,25 mm foram recompactadas seguindo o mesmo protocolo conforme descrito para obtenção dos compactos. O ciclo de compactação e cominuição foi repetido até que o percentual de partículas finas fosse inferior a 10 % da mistura total.

O rendimento da operação de granulação foi calculado, no primeiro ciclo da granulação, através do percentual de granulados calibrados, sobre a massa do complexo farmacêutico.

Tabela 1: composição ponderal das formulações para obtenção dos granulados.

Formulações	PSA (%)	EST (%)	DSC (%)	CMC (%)
F1 (COUTO, 2000)	69,23	1,00	2,20	27,57
F2	99	1,00	-	-
F3	97	1,00	2,00	-
F4	98	1,00	1,00	-

PSA = produto seco por aspersão; EST = estearato de magnésio; DSC = dióxido de silício coloidal; CMC = celulose microcristalina

#### *Avaliação dos compactos*

A resistência à queda e à abrasão foi determinada em friabilômetro tipo Roche, a 20 rpm, durante 5 min, utilizando 20 compactos de cada formulação. A dureza foi determinada através da resistência ao esmagamento radial, em durômetro Scheleuniger. O teste do tempo de desintegração dos compactos foi realizado em água a  $37 \pm 1$  °C segundo a Farmacopéia Brasileira IV, 1988.

#### 2.2.2 Desenvolvimento dos granulados por via úmida (GRU)

Para obtenção dos granulados por via úmida foi utilizado Eudragit E100 como agente aglutinante. Foram preparados três granulados contendo distintas proporções de Eudragit E, 2,5%, 5% e 10%, respectivamente. O produto seco por aspersão e a solução de Eudragit E, em acetona (12,5% m/v), foram malaxados até consistência adequada para granulação. A granulação foi realizada, manualmente, através de tamis com 1 mm de abertura de malha. Os granulados foram secos, a 25 °C durante 2 horas, em estufa de ar circulante, sendo posteriormente classificados em tamis com 1 mm de abertura de malha.

## 2.3 Caracterização dos granulados

### 2.3.1 Análise granulométrica por tamisação

Cerca de 20 g de granulado foram submetidos à passagem através de tamises, previamente tarados, com abertura de malha de 0,850; 0,710; 0,600; 0,500; 0,355 e 0,250 mm. A tamisação foi realizada utilizando o aparelho Orto Alresa (HZ50) a 60 vibrações por segundo durante 15 min. As frações retidas nos tamises e coletor foram pesadas e os dados analisados através da construção de histogramas de distribuição. O diâmetro médio e a amplitude de distribuição foram calculados através de método aritmético (LANTZ, 1989).

### 2.3.2 Densidade bruta, densidade de compactação e índice de Carr (VOIGT, 1993; GUYOT e col. , 1995).

Os volumes brutos e de compactação foram medidos em volúmetro de compactação (J. Engelsmann), onde 10 g do pó, exatamente pesados, foram vertidos numa proveta de 25 ml (volume bruto =  $V_b$ ) e submetidos a seqüências de 1250 quedas até que a diferença entre duas leituras subseqüentes fosse inferior ou igual a 0,1 ml, sendo este considerado como volume de compactação ( $V_c$ ). A partir dos dados obtidos neste ensaio foram calculados as densidades brutas e de compactação e o índice de Carr, segundo a equação 1.

$$IC = \frac{d_b - d_c}{d_c} \times 100 \quad (1)$$

onde:  $d_b$  = densidade bruta (g/ml);  $d_c$  = densidade de compactação (g/ml); IC = índice de Carr (%)

### 2.3.3 Análise quantitativa de polifenóis por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Foi realizada utilizando método descrito e validado para o doseamento de polifenóis presentes no produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*<sup>\*</sup>.

---

\* DE SOUZA, T.P. tese de doutorado. capítulo 3.

A solução-mãe (SM) foi preparada através da pesagem de granulado equivalente a 73,8 mg de PSA, dissolvidos com água para 100,0 ml, sob agitação, por 2 horas. Alíquotas de 2,0 ml da SM foram diluídas com acetonitrila:água (20:80 v/v) para 25,0 ml, resultando uma concentração de 59,04 µg/ml (SA). Antes da análise, a SA foi filtrada por membrana hidrofílica.

#### 2.3.4 Avaliação frente à compressão

A avaliação da compressão foi realizada em máquina de comprimir excêntrica J. Bonals BMT, equipada com punções circulares, planos e lisos de 9 mm, instrumentalizada e com sistema de aquisição de dados conforme descrito por MARTÍNEZ-PACHECO e col., (1985). Os comprimidos foram obtidos por pesagem individual do pó e enchimento manual da câmara de compressão, sendo o volume ajustado de modo que todos os comprimidos tivessem um conteúdo constante de PSA de 250 mg. A compressão foi realizada por acionamento automático com velocidade fixada em 8 comprimidos/min.

A pressão média de deformação ( $P_y$ ), plasticidade (P %) e recuperação elástica (RE %) do produto seco por aspersão e granulados foram estimadas através do modelo de Heckel e de curvas força – tempo (HUBERT-DROZ e col., 1982), sendo os cálculos realizados utilizando o programa Excel ® 97. A força de compressão foi medida em nível do punção superior, utilizando força de compressão máximas aplicáveis ao PSA e granulados obtidos por via seca de 6000 N e de 2500 N para granulados obtidos por via úmida.

#### 2.3.5 Sorção de umidade

O PSA e granulados foram estocados por 15 dias em ambiente com umidade relativa de 69 %, obtida através de uma solução saturada, com resíduo sólido, de iodeto de potássio (NYQVIST, 1983), e temperatura controlada de 25 °C. A sorção de umidade foi avaliada através do aumento de peso produtos, o qual foi verificado pela pesagem das amostras nas primeiras 24 e 48 horas, seguidas de pesagens consecutivas de 72 em 72 horas por um período de 15 dias.

### 2.3.6 Análise estatística

Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), teste de Tukey e teste t de Student realizados com auxílio do programa estatístico SigmaStat® for Windows versão 1.0.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Desenvolvimento de granulado seco

Inicialmente os estudos foram baseados no trabalho realizado por COUTO (2000) que definiu os adjuvantes celulose microcristalina, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal como os mais favoráveis, tecnologicamente, para obtenção de granulados, por via seca, contendo alto teor de PSA.

Embora o PSA em estudo tenha sido obtido em escala semi-industrial e, conseqüentemente, apresentando melhores características tecnológica que o PSA produzido em escala piloto, estas ainda não foram suficientes para obtenção de comprimidos por compressão direta, fazendo-se necessária a etapa de granulação, e, neste caso, devido à higroscopia do produto, avaliou-se, primariamente, a granulação por via seca. Assim, foram estudadas, além da formulação de COUTO (2000), a viabilidade de obtenção de granulados de PSA contendo apenas estearato de magnésio como lubrificante e/ou dióxido de silício coloidal, funcionando tanto como regulador de fluxo quanto como agente sorvente para proteger o produto obtido da ação da umidade.

As formulações testadas (tabela 1) foram preparadas em quantidades suficientes para avaliação tecnológica dos compactos e granulados. De maneira geral, os compactos foram produzidos com faixa de dureza de 50 a 70 N, com alimentação automática da câmara de compressão.

Segundo PRISTA (1997), os briquetes produzidos para granulação em rolos sulcados, devem apresentar espessura na faixa de 3 a 4 mm de modo a facilitar o processo. Dessa forma, considerando que as formulações apresentavam composição diferenciada e, conseqüentemente densidades diferentes, o peso médio

foi ajustado para que ambas apresentassem espessura e faixa de dureza semelhantes.

Os resultados de caracterização tecnológica dos compactos estão descritos na tabela 2. Como pode ser observado, de modo geral, com exceção da formulação 1, todas apresentaram peso médio com coeficiente de variação abaixo de 1,5 %, isso pode ser explicado pela boa fluidez do PSA permitindo enchimento homogêneo da câmara de compressão.

Tabela 2: caracterização dos compactos

resultados	Formulações			
	F1	F2	F3	F4
	$\bar{X} \pm s$ (CV%)	$\bar{X} \pm s$ (CV%)	$\bar{X} \pm s$ (CV%)	$\bar{X} \pm s$ (CV%)
Peso médio (g)	0,6413 ± 0,017 (2,67)	0,828 ± 0,004 (0,5)	0,833 ± 0,01 (1,2)	0,8101 ± 0,003 (0,4)
Diâmetro (mm)	15,18 ± 0,017 (0,11)	15,19 ± 0,07 (0,52)	15,22 ± 0,02 (0,12)	15,20 ± 0,009 (0,06)
Espessura (mm)	3,23 ± 0,013 (0,4)	3,90 ± 0,025 (0,6)	4,07 ± 0,03 (0,7)	3,93 ± 0,01 (0,3)
Friabilidade (%)	9,7	42,14	69,4	50,9
Dureza (N)	57,51 ± 11,3 (23,2)	64,6 ± 5,0 (7,78)	53,6 ± 8,6 (16,13)	55,0 ± 7,5 (13,7)
Tempo de desintegração (min)	25:48 ± 6,14 (24,7)	10:32 ± 0,36 (3,5)	12:33 ± 0,58 (4,7)	8:00*

\* todos os compactos desintegraram-se ao mesmo tempo

Comparando-se estatisticamente as durezas dos compactos de diferentes formulações, não houve diferença significativa ( $p = 0,43$ ), no entanto os mesmos apresentaram valores de friabilidade bem diferentes entre si. Dentre as formulações avaliadas, a F1 foi a que originou compactos com maior resistência, provavelmente devido a presença da celulose microcristalina, adjuvante com poder aglutinante, favorecendo a coesão entre as partículas.

Todos os compactos apresentaram tempo de desintegração (TD) dentro do limite máximo (30 min) estabelecido pela Farmacopéia Brasileira (F. Bras. IV, 1988), no entanto, a F1 foi a que apresentou maior TD, com valor muito próximo ao limite farmacopeico e elevado coeficiente de variação, enquanto que as demais formulações desintegram-se mais rápido e de maneira mais homogênea.

Como pode ser observado na tabela 3, a F1 apresentou menor rendimento na operação de granulação, enquanto que as demais originaram granulados com rendimentos semelhantes na faixa de 60 %. Tecnicamente, quanto maior o rendimento da granulação menos ciclos operacionais são necessários e, com isto, o produto sofrerá menor estresse mecânico.

Tabela 3: rendimento (R %) da operação de granulação

Formulação	F1	F2	F3	F4
R %	45,82	61,2	62,8	62,4

A elevada friabilidade dos compactos poderia ser uma das explicações para alta produção de finos durante o processo de granulação (COUTO, 2000). No entanto, os experimentos mostraram que os compactos que apresentaram menor friabilidade (F1) foram os que originaram maior produção de finos (acima de 50 %). Os granulados desenvolvidos por COUTO (2000) apresentaram rendimento de granulação semelhante ao presente estudo. Assim, o baixo rendimento da granulação pode ser inerente à própria formulação.

Os resultados da análise granulométrica dos granulados estão representados na figura 1. Como pode ser observado, de modo geral, os granulados apresentam distribuição granulométrica muito semelhantes entre si, o que pode indicar reprodutibilidade na metodologia de obtenção dos granulados.

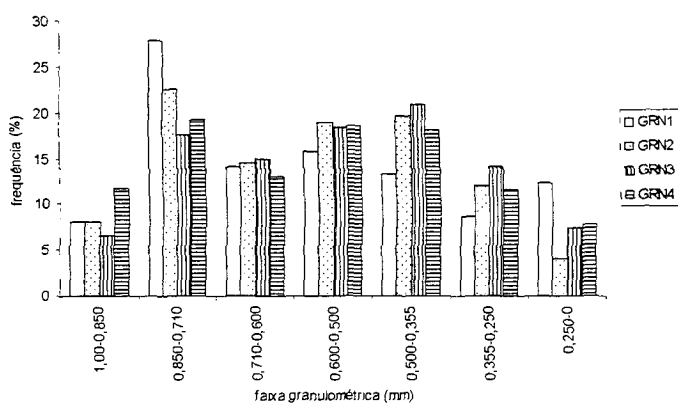


Figura 1: distribuição granulométrica dos granulados de PSA de *P. niruri*



Com relação aos parâmetros tecnológicos (tabela 5), de modo geral, verifica-se que os granulados apresentaram características de compactação e fluxo melhores que o PSA (tabela 4). Embora a análise estatística indique que o GRN 2 apresentou valores de densidade de compactação e índice Carr, diferentes dos demais granulados, observa-se que os valores estão muito próximos entre si, fato inerente à semelhante distribuição granulométrica entre os diferentes granulados. Os valores do diâmetro médio de partícula e do desvio granulométrico dos granulados confirmam que as formulações originam produtos com distribuições granulométricas muito próximas entre si.

Tabela 4: características tecnológicas do produto seco por aspersão (PSA) de *P. niruri*

Ensaio	Valores $\bar{X} \pm s$ (CV%)
densidade bruta (g/ml)	0,7901 $\pm$ 0,004 (0,51)
densidade de compactação (g/ml)	0,9725 $\pm$ 0,008 (0,82)
Índice de Carr (%)	18,753 $\pm$ 0,293 (1,56)
$\bar{d}_m$ ( $\mu$ m)	10,55 $\pm$ 1,56 (0,15)

Tabela 5: parâmetros de compactação dos granulados obtidos por via seca (GRN)

Ensaio	GRN 1 $\bar{X} \pm s$	GRN 2 $\bar{X} \pm s$	GRN 3 $\bar{X} \pm s$	GRN 4 $\bar{X} \pm s$
db (g/ml)	0,608 <sup>a</sup> $\pm$ 0,008	0,600 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	0,595 <sup>a</sup> $\pm$ 0,005	0,589 <sup>a</sup> $\pm$ 0,008
dc (g/ml)	0,655 <sup>b</sup> $\pm$ 0,019	0,700 <sup>a</sup> $\pm$ 0,007	0,646 <sup>b</sup> $\pm$ 0,001	0,639 <sup>b</sup> $\pm$ 0,004
IC %	7,08 <sup>b</sup> $\pm$ 1,78	14,35 <sup>a</sup> $\pm$ 0,62	7,92 <sup>b</sup> $\pm$ 0,78	7,67 <sup>b</sup> $\pm$ 1,55
$\bar{d}_m$ (mm)	0,583 <sup>a</sup> $\pm$ 0,249	0,588 <sup>a</sup> $\pm$ 0,214	0,550 <sup>a</sup> $\pm$ 0,224	0,579 <sup>a</sup> $\pm$ 0,237

db = densidade bruta; dc = densidade de compactação; IC = índice de Carr;  $\bar{d}_m$  = diâmetro médio. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ )

De acordo com os ensaios de caracterização realizados com os granulados verificou-se que, tecnologicamente, não há grandes diferenças entre os mesmos, tornando-se difícil eleger, entre as formulações, a que apresenta melhores propriedades para o desenvolvimento de comprimidos. No entanto, considerando o rendimento da operação de granulação, como ponto crítico para obtenção de granulados, excluiu-se a F1, uma vez que esta apresentou um rendimento abaixo de 50 %.

Dessa forma, o doseamento dos granulados, foi realizado apenas com os granulados oriundos das formulações 2, 3 e 4

A análise quantitativa (tabela 6) foi realizada visando verificar a homogeneidade de distribuição do PSA nos granulados, para tanto os teores dos polifenóis presentes nos granulados foram comparados com os do PSA. A ANOVA demonstrou que, estatisticamente, não há diferença significativa ( $\alpha = 0,01$ ) entre os teores de polifenóis presentes nos granulados e no PSA.

Tabela 6: teor de polifenóis presentes em um grama de produto seco por aspersão (PSA) e de granulados obtidos por via seca (GRN)

Substâncias	PSA X (CV %)	GRN2 X (CV %)	GRN 3 X (CV %)	GRN 4 X (CV %)
S1- ácido gálico (mg)	12,02 (1,27)	11,84 (0,28)	11,80 (0,60)	11,74 (0,87)
S2 (mg)	15,64 (3,19)	15,61 (1,63)	16,33 (3,44)	15,77 (0,43)
S3 (mg)	19,62 (1,72)	19,16 (0,53)	19,35 (0,26)	19,36 (0,44)

### 3.2 Desenvolvimento de granulado por via úmida

Na tabela 7 estão descritas as propriedades mecânicas dos granulados obtidos por via úmida. Observa-se que a medida que se aumenta a proporção Eudragit nos granulados parece haver uma melhora nos parâmetros de compactação, sendo o GRU 10 % a apresentar menor índice de Carr, sugerindo ser o granulado com melhor estabilidade de empacotamento e, provavelmente, melhores propriedades de fluxo. A justificativa pode estar relacionada ao aumento do diâmetro médio particular de acordo com a proporção de Eudragit dos granulados (Planinsek e col., 2000). Quanto à granulometria, pode ser verificado uma semelhança muito grande entre os granulados.

Tabela 7: parâmetros de compactação dos granulados obtidos por via úmida (GRU)

Ensaio	GRU 2.5 % $\bar{X} \pm s$	GRU 5 % $\bar{X} \pm s$	GRU 10 % $\bar{X} \pm s$
db (g/ml)	0,411 <sup>b</sup> ± 0,008	0,432 <sup>b</sup> ± 0,014	0,509 <sup>a</sup> ± 0,007
dc (g/ml)	0,484 <sup>b</sup> ± 0,007	0,491 <sup>b</sup> ± 0,007	0,577 <sup>a</sup> ± 0,001
IC %	14,94 <sup>a</sup> ± 2,120	12,17 <sup>a</sup> ± 0,809	11,75 <sup>a</sup> ± 1,29
$\bar{d}_m$ (mm)	0,679 <sup>a</sup> ± 0,314	0,680 <sup>a</sup> ± 0,336	0,806 <sup>a</sup> ± 0,249

db = densidade bruta; dc = densidade de compactação; IC = índice de Carr;  $\bar{d}_m$  = diâmetro médio. Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ )

A granulação por via úmida produziu granulados com bons rendimentos, de cerca de 99,5 %, 99, 3% e 93,1 % para os granulados contendo 2,5; 5 e 10 % de Eudragit, respectivamente.

O doseamento dos granulados (tabela 8) demonstrou que a presença de Eudragit nos granulados não alterou a composição de polifenóis presentes no PSA, uma vez que não houve diferença estatística significativa ( $\alpha = 0.01$ ) entre o doseamento dos granulados obtidos por via úmida e o PSA.

Tabela 8: teor de polifenóis presentes em um grama de PSA e de granulados obtidos por via úmida (GPU)

Substâncias	PSA X (CV %)	GPU2,5 X (CV %)	GPU5 X (CV %)	GPU10 X (CV %)
S1- ácido gálico (mg)	12,33 (0,32)	11,91 (0,28)	11,99 (0,23)	11,57 (0,45)
S2 (mg)	15,31 (1,54)	14,76 (0,39)	14,80 (0,69)	14,33 (0,23)
S3 (mg)	15,06 (1,53)	14,87 (1,20)	15,21 (0,56)	13,87 (0,41)

### 3.3 Estudo de compressão

A avaliação do comportamento frente a compressão foi realizado com o produto seco por aspensão, granulado seco e granulados obtidos por via úmida. Dentre os granulados secos, somente o GRN 4 foi escolhido para participar do ensaio em virtude da semelhança tecnológica com os demais granulados. Por outro lado, todos os granulados úmidos participaram do estudo, uma vez que se pretendia observar se as diferentes proporções de Eudragit E interferiam no comportamento compressional do produto.

O gráfico de Heckel (figura 2) demonstrou que os produtos apresentaram um comportamento frente à compressão diferenciado. No sistema estudado, o limite máximo de compressão para os granulados obtidos por via úmida foi, consideravelmente baixo (2500 N), principalmente quando comparado ao PSA e granulado obtido por via seca, os quais permitiram a aplicação de uma força de 6000 N. Tal fato pode ser explicado pelas diferenças de densidade e porosidade entre os granulados.

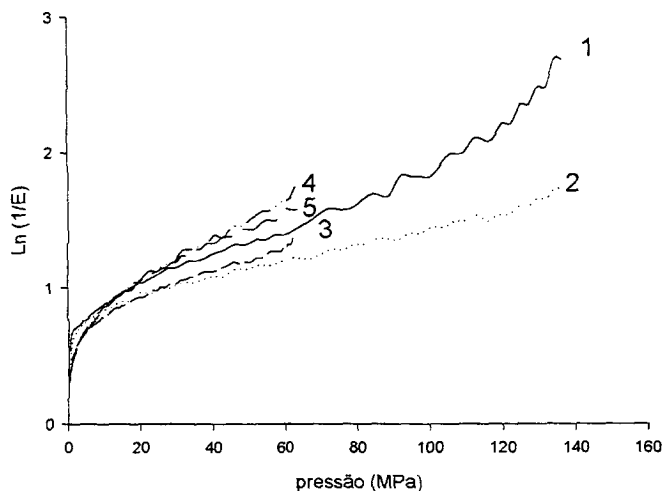


Figura 2: gráfico de Heckel, 1- PSA; 2 – GRN 4; 3 – GRU2.5; 4 – GRU5; 5- GRU10

As propriedades de compressão (tabela 9) revelam uma alta recuperação elástica para todos os produtos estudados. A pressão média de deformação ( $P_y$ ) sugere que PSA e os granulos obtidos por via úmida apresentam comportamento predominantemente plástico, enquanto que o granulo obtido por via seca apresenta simultaneamente um comportamento de deformação plástica e por fragmentação.

Tabela 9: Parâmetros de física de compressão calculados para o produto seco por aspersão (PSA), granulo seco (GRN4) e granulos obtidos via úmida (GRU2,5), (GRU5) e (GRU10)

amostras	$P_y$ (MPa) X (CV%)	P (%) X (CV%)	E (%)
PSA	111,6 (3,16)	64,47 (2,26)	35,53
GRN4	168,5 (0,96)	60,47 (0,27)	38,53
GRU2,5	107,95 (2,22)	65,44 (3,22)	34,56
GRU5	67,44 (2,14)	61,75 (3,44)	38,25
GRU10	81,08 (0,47)	64,26 (4,27)	35,74

$P_y$  = pressão média de deformação, P = plasticidade, E = recuperação elástica

### 3.4 Sorção de umidade

A exposição dos PSA e granulados a ambiente com umidade relativa de 69 %, demonstrou que todos os produtos apresentaram-se sensíveis a umidade (figura 3). No entanto, comparando-se o PSA com os granulados, verificou-se que estes mostraram uma significativa menor sorção de umidade, o que pode ser devido à menor área superficial dos granulados.

A presença de Eudragit na proporção de 2,5 % nos granulados úmidos não foi suficiente para diferenciá-lo, em termos de sensibilidade à umidade do granulado seco, porém em proporções igual ou maior que 5 % originou granulados com uma higroscopia significativamente menor que os demais, o que demonstra a propriedade protetora desse polímero e sugere uma maior estabilidade do granulado (PETEREIT e WEISBROD, 1999). Esses achados estão de acordo com o descrito por DÍAZ e col. (1996) que, estudando a granulação por via úmida de extrato seco vegetal, utilizando Eudragit E como agente aglutinante, verificaram que os produtos obtidos apresentavam higroscopia consideravelmente menor que o extrato seco.

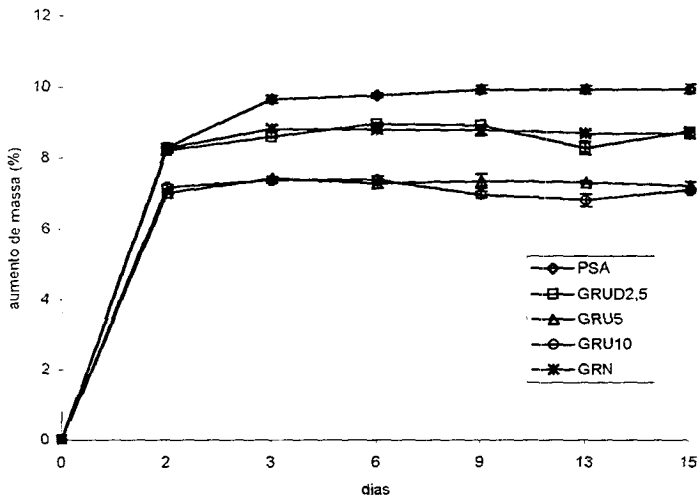


Figura 3: aumento de massa dos produtos quando armazenados em ambiente com umidade relativa de 69 %.

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados mostraram a viabilidade de obtenção de produtos granulados a partir do produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*. Tanto a granulação por via seca como a por via úmida foram capazes de originar granulados com adequadas características tecnológicas e bom rendimento operacional. A presença de Eudragit E, nos granulados obtidos por via úmida, quando em proporção igual ou superior a 5 % foi eficiente em produzir granulados com menor sensibilidade à umidade. Com relação à compressão, os granulados apresentaram comportamento diferenciado. O granulado seco exigiu uma maior força de compressão e deformou-se de modo plástico porém com um percentual de fragmentação, enquanto que os granulados obtidos por via úmida deformaram-se de forma completamente plástica. Apesar do estudo demonstrar resultados promissores em relação a obtenção de comprimidos a partir desses granulados, maiores investigações devem ser realizadas a fim de verificar a viabilidade tecnológica de transformação desses produtos em comprimidos.

#### 5 BIBLIOGRAFIA

BONATI, A. Problems Relating to the Preparation and Use of Extracts from Medicinal Plants. **Fitoterapia**, v. 1, p. 5-12, 1980.

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

CRIPPA, F. Problems of Pharmaceutical Technics with Plant Extracts. **Fitoterapia**, v. 49, p. 257-263, 1978.

DE SOUZA, K.C.B; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the Technological Characteristics of Spray-dried Powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000.

DÍAZ, L.M.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTÍNEZ-PACHECO. Evaluation of Eudragit E as major excipient in tablets of dry plant extracts. **S.T.P. Pharma Sciences**, v. 6, p. 105-109, 1996.

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

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

HUBERT-DROZ, P.; MORDIER, D.; DOELKER, E. Rapid Method of Determination of Compression Behaviour for preformulations Studies. **Pharmaceutia Acta Helvetie**, v. 57, p. 136-143, 1982.

LANTZ Jr, R.J. Size Reduction IN: LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2<sup>nd</sup> ed., New York: Marcel Dekker, 1989. v. 2, cap. 3.

LIST, P.H. e SCHIMDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

MARTINEZ-PACHECO, R.; GOMEZ-AMOZA, J.L. y VILA JATO, J.L. Diseño de un sistema de registro de presión en máquinas de comprimir excéntrica. **Ciencias Industrial Farmacéutica**, v. 4 , p. 207-211, 1985.

NYQVIST, H. Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. **International Journal Pharmaceutical Technology e Production Manufacturing**. v. 4, n. 2, p. 47-78. 1983.

ONUNKWO, G.C.; UDEALA, O.K. Studies on *Rauwolfia vomitoria* Root III. Flow properties of R. vomitoria Granulations. **S.T.P. Pharma Sciences**, v.5, n.4, p. 296-301, 1995.

PETEREIT, H.U.; WEIBSBROD, W. Formulation and Process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. **European Journal Pharmaceutical and Biopharmaceutical**, v. 47, n. -2, p. 15-25, 1999.

PLANINSEK, O.; PISEK, R.; TROJAK, A.; SRCIC, S. The Utilization of Surface Free Energy Parameters for the Selection of a Suitable Binder in Fluidized Bed Granulation. **International Journal Pharmaceutical**, v. 207, p. 77-88, 2000.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 5. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Goulbenkian, v.1, 1997.

SOARES, L.A.L. Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra). **Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.**

SOARES, L.A.L.; SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Efeito da força e velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farmacéutica Bonaerence**, v. 22, n. 2, 147-154, 2003.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 7. überarb. Aufl., Berlin: Ullstein Mosby, 1993.

## 6. AGRADECIMENTOS

A equipe agradece o suporte financeiro fornecido pela CAPES e CNPq fundamental para a realização do trabalho.



**CAPÍTULO 5 – Estudo para Obtenção de Comprimidos Contendo Alto Teor de  
Produto Seco por Aspersão de *Phyllanthus niruri***

---

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de comprimidos a partir de extratos secos vegetais tem atraído a atenção de vários investigadores na área de tecnologia farmacêutica, fato relacionado com a comprovação científica da importância terapêutica das plantas medicinais (BOYD, 1996, RENOUX e col., 1996, PALMA e col., 1999).

No entanto, o desenvolvimento e a produção de comprimidos, cujo componente principal são extratos secos vegetais, apresentam uma série de dificuldades relacionadas às características tecnológicas dos extratos secos, os quais, geralmente, não apresentam propriedades reológicas e de compressibilidade que favoreçam a obtenção de comprimidos. Além do que, a elevada higroscopia desses produtos dificulta a compressão e diminui a estabilidade da forma farmacêutica (RENOUX e col., 1996; LINDEN e col., 2000; SOARES, 2002).

O emprego da granulação tem se apresentado como uma boa alternativa no sentido de melhorar as características de fluxo e de compressão dos extratos secos vegetais. No entanto a granulação por via úmida com emprego de líquidos aquosos conduz a problemas, devido à higroscopia desse produto e, sendo assim, a maioria dos investigadores opta pela compressão direta ou granulação por via seca, o que, na grande parte do caso não resolve o problema de sensibilidade à umidade do produto final (PLAZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986, LINDEN e col., 2000; SOARES, 2002). A utilização de polímeros acrílicos como agente de granulação, por via úmida, e como protetor da umidade atmosférica pode representar uma alternativa na obtenção de comprimidos com maior estabilidade frente às variações atmosféricas (DÍAZ e col., 1996).

Sendo assim, o presente capítulo teve por objetivo o desenvolvimento de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* com adequadas características tecnológicas e maior estabilidade frente às variações de umidade ambiental.

**MANUSCRITO: Compressional Behavior of Formulations from *Phyllanthus niruri* Spray Dried Extract**

---

Artigo em elaboração para ser submetido ao periódico *Die Pharmazie*

COMPRESSION BEHAVIOR OF FORMULATIONS FROM *PHYLLANTHUS NIRURI*  
SPRAY DRIED EXTRACT

DE SOUZA, T.P.<sup>1</sup>; GÓMEZ-AMOZA, J.L.<sup>2</sup>; MARTÍNEZ-PACHECO, R.<sup>2</sup>;  
PETROVICK, P.R.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil. <sup>2</sup>Departamento de Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela – La Corunã, Spain.

**ABSTRACT**

The aim of this study was to evaluate the compression behavior of *Phyllanthus niruri* spray dried extract as well as the influence of excipients on properties of tablets containing a high dose (70 % by weight) of this product. The effect of excipients was studied by a 2<sup>2</sup> factorial design. The investigated factors were the type of disintegrant (Ac-Di-Sol® and Primojel®) and the type of filler/binder (Avicel® pH 101 and Emcompress®). In this phase the tablets were produced on a single punch tablet press using a constant compression force of 5000 N. The tablets formulated with Avicel® showed a plastic behavior while the tablets containing Emcompress® a fragmentative one. The disintegration time was influenced significantly by both factors, but the tensile strength was affected only by the filler/binder. Additional experiments considering the influence of the compression force (2250 N and 5000 N) and proportion of Ac-Di-Sol (1.5 %, 3.0 % and 6.0 %) on the mechanical properties of the tablets were performed by a 2 x 3 factorial design. Both factors

affected significantly the tensile strength, friability and disintegration time of the tablets.

**Key words:** compression, spray dried extract, *Phyllanthus niruri*, excipients, Heckel's plot.

## 1. INTRODUCTION

Pharmacological studies with *Phyllanthus niruri* demonstrate the efficacy of aqueous extracts against kidney disorders and viral hepatitis (CALIXTO et al., 1998). Spray dried extract from this plant was developed to produce stable, more easy to handle and to dose intermediary technological products (SOARES, 1997). However, spray dried extracts generally show deficient rheological properties, poor compressibility and high moisture sensibility that difficult their direct compression, being necessary the addition of pharmaceutical excipients to overcome those problems (RENOUX et al., 1996; DE SOUZA et al., 2001; PALMA et al., 2002). The properties of excipients affect various technological parameters of the powder pharmaceutical complex such as compressibility, flowability and content uniformity. Thus, by varying the type and quantity of the excipient incorporated into the formulation it is possible to correct and to optimize these characteristics (PIFFERI et al., 1999). Excipients show an important role in the compression of spray dried extracts and their adequate choice represents the first step to elaborate a feasible dosage form. Hence, the aim of this work is to evaluate the compression behavior of *P. niruri* spray dried extract and the influence of different excipients on this process.

## 2. MATERIALS AND METHODS

### 2.1 Material

The dry extract of *Phyllanthus niruri* was produced by spray drying using a Niro Atomizer Production Minor equipment following to described by SOARES (2002). The excipients Avicel® PH 101 (FMC), Emcompress® (Edward Mendell), Primojel® (Avebe), Ac-Di-Sol® (FMC) and Magnesium stearate (purchased from C. Barcia S.A.) were used as received.

### 2.2 Influence of excipients on technological characteristics of *P. niruri* spray dried extract (SDE)

A 2<sup>2</sup> factorial design was employed to evaluate the effect of the excipients on the compression of the dry extract. The studied factors were the type of disintegrant and the type of filler/binder according to table 1.

Table 1: factors and levels for the qualitative factorial design

Formulation	Disintegrant	Filler/Binder
F1	Ac-Di-Sol	Avicel
FA	Primojel	Avicel
FB	Ac-Di-Sol	Emcompress
FAB	Primojel	Emcompress

The formulations were composed by *P. niruri* spray dried extract (70 %), disintegrant (3 %), filler/binder (26 %) and magnesium stearate (1 %) as lubricant. The analyzed responses were the tensile strength and the disintegration time of the tablets.

#### Tablet preparation

The *P. niruri* SDE, disintegrant and filler/binder were blended in a Turbula mixer (T2C – Willy A. Bachhofen), for 15 min at 60 rpm, after that magnesium stearate

was added into the mixture and blended for additional 5 min. The tablets were prepared by individual weighting of 300.0 mg from each formulations and compression at 5000 N on an instrumented single punch tablet machine (J. Bonals BMT) equipped with flat-faced 9 mm punches (MARTÍNEZ-PACHECO et al., 1985). The press was set at 8 cycles/min.

### 2.3 Influence of compression force and disintegrant concentration on the technological characteristics of the tablets

This study was performed by a 2 x 3 factorial design where the effect of the compression force (two levels) and the proportion of disintegrant (three levels) on tablets tensile strength, friability and disintegration time were analyzed (table 2).

Table 2: factors and levels for the 2 x 3 Factorial Design

Formulation	Compression force (coded)	Ac-Di-Sol (coded)	Compression force (N)	Ac-Di-Sol (% w/w)
1	+1	+1	5000	6.0
2	+1	0	5000	3.0
3	+1	-1	5000	1.5
4	-1	+1	2250	6.0
5	-1	0	2250	3.0
6	-1	+1	2250	1.5

The formulations were composed by *P. niruri* SDE, Ac-Di-Sol as disintegrant, magnesium stearate as lubricant and Avicel as filler/binder. The proportion of SDE and lubricant were maintained constant at 70 % and 1 % respectively, the amounts of disintegrant ranged according to table 2 and the filler/binder was used in sufficient amount to obtain tablets with 300.0 mg. The tablets were produced in accordance to item 2.2 (preparation of the tablets), changing the compression force (table 2).

## **2.4 Tablets characterization**

### *Compression properties*

Mean yield pressure ( $P_y$ ) was estimated from force displacement curves following Heckel's model (HUBERT-DROZ et al., 1982). Plasticity (PI) was calculated from force time curves according to YLIRUUSI et al. (1997). Compression force was measured at the upper punch. Each formulation was subjected to five force displacement cycles with a maximum force of 5000 N. True density, required to estimate  $P_y$ , was determined by a helium pycnometer (Quantachrome MPY-2).

### *Tensile strength*

The crushing strength of ten tablets was measured with a Erweka TB-2A apparatus. The tensile strength was calculated from equation 1 (FELL and NEWTON, 1970; SUMMERS et al., 1977)

$$TS = \frac{2P}{\pi Dt} \quad \text{equation 1}$$

where TS is the tensile strength (MPa); P is the crushing strength of the tablet (N); D is the tablet diameter (cm); and t is the tablet thickness (cm). The tablet diameter and thickness were measured by a digital micrometer (Mytutoyo).

### ***Scanning electron microscopy***

The inner surface of the broken tablets from the crushing strength test was coated with gold under vacuum and examined by scanning electron microscopy (Leica S440).



### *Disintegration time*

Disintegration time was determined according to the USP 25 (2002) (DT-1 Turu Grau). Water at 37 °C was used as test medium.

### *Friability*

The friability of twenty tablets was examined with a Pharma Test PTF-E apparatus following USP 25 specifications.

## **2.5 Experimental design and statistical analysis**

The effects of the factors on *tensile strength*, *friability* and *disintegration time* of the tablets were investigated by stepwise multiple regression analysis (COCHRAN and COX, 1969) as performed by the Statistical Package for Social Sciences (SPSS - version 11.0). The curves of response surface were obtained from adjusted equations and the graphics were plotted by SigmaPlot® version 8.0.

## **3. RESULTS AND DISCUSSION**

The choice criteria of the excipients were the adequacy to direct compression as described in the literature (HOEPFNE et al., 2002). Among the different excipients employed in the pharmaceutical industry, Avicel and Emcompress were selected as filler/binder due to their distinct compression behavior, while as superdisintegrants Ac-Di-Sol and Primojel were chosen (WADE and WELLER, 1994).

The compression parameters of the SDE and formulations are displayed in the table 3. The results suggest a main mechanism of plastic deformation ( $P_y = 111.60$  MPa) to *Phyllanthus niruri* SDE what is in accordance with the compression behavior of

*Maytenus ilicifolia* SDE, characterized by SOARES (2002), as a plastic material showing a Py of 158 MPa.

The formulations F1 and FA had similar compression behavior to SDE, plastic deformation, while formulations FB and FAB showed a predominant fragmentative behavior with Py higher than 200 MPa. It is known that microcrystalline cellulose (Avicel) undergoes a plastic deformation showing a mean yield pressure (Py) around 54 MPa and dicalcium phosphate dihydrate (Emcompress) is characterized as a brittle material with Py about 250 MPa (LANDÍN et al., 1994; DOELKER et al. 1995). Considering the high concentration of SDE (70 %) into the formulations it could be still expected that excipients will be able to change the compression comportment of formulations, however addition of Avicel did not modify the original behavior of the SDE. On the other hand Emcompress increased significantly the Py. SCHMIDT and LEITRITZ (1997) studying the compressional behavior of binary mixture containing microcrystalline cellulose and dicalcium phosphate dihydrate at different proportions concluded that low amounts (< 10 %) of the last one were sufficient to modify the characteristic of the final formulation.

Table 3: real density and compression proprieties of *P. niruri* spray dried extract (SDE) and tablet formulations

Formulations	Real density (g/cm <sup>3</sup> ) X ± s	Py (MPa) X ± s	PI (%) X ± s
SDE	1.72 ± 0.006	111.60 ± 3.527	64.47 ± 1.460
F1 (AcDiSol + Avicel)	1.63 ± 0.011	106.09 ± 3.553	61.95 ± 1.860
FA (Primojel + Avicel)	1.64 ± 0.009	117.21 ± 2.087	62.90 ± 2.830
FB (AcDiSol + Emcompress)	1.81 ± 0.010	225.59 ± 2.916	70.47 ± 0.760
FAB (Primojel + Emcompress)	1.82 ± 0.001	223.90 ± 2.916	71.17 ± 0.420

All products show a plasticity (PI) within the range of 60 % to 70 %, significantly correlated ( $p < 0.05$ ) to the real density of the products ( $r^2 = 0.9792$ ). These results suggest a considerable elastic recuperation of the dry extract and formulations (YLIRUUSI et al., 1997). It was observed that formulations containing Avicel undergo higher elastic recovery than Emcompress one. The fibrous structure of Avicel protects the spherical particles of SDE, acting as a cushioning agent.

The microphotographies of the spray dried extract and the tablets are displayed on figure 1. It can be verified that after compression some SDE particles maintained their original spherical shape. Indeed part of the particles was deformed, what was necessary to bond formation, others remain intact. The same phenomena take place in the formulations containing the excipients. This fact agrees with the high elastic recovery of the formulations and indicates a participation of SDE in the bound formation during compactation.

The mechanical characteristics of the tablets are presented in table 4. All formulations had adequate technological properties with friability values lower than 0.6 % and disintegration time under 11 minutes.

Table 4: mechanical characteristics of tablets

Formulation	TS (MPa) $\bar{X} \pm s$	DT (min) $\bar{X} \pm s$	Friability (%)
F1	$1.53 \pm 0.07$	$8.23 \pm 0.12$	0.13
FA	$1.64 \pm 0.10$	$10.35 \pm 0.12$	0.15
FB	$0.81 \pm 0.04$	$6.17 \pm 0.04$	0.52
FAB	$0.86 \pm 0.88$	$8.13 \pm 0.11$	0.54

TS = tensile strength; DT = disintegration time

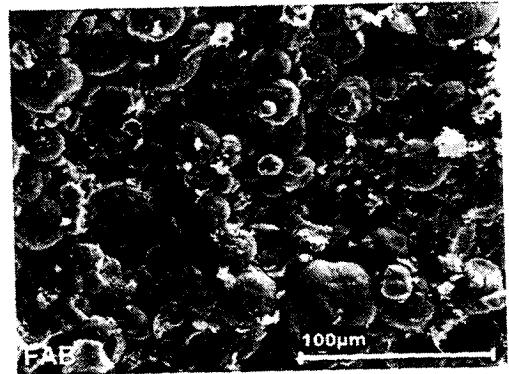
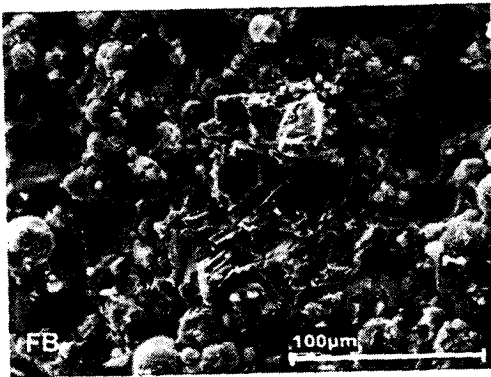
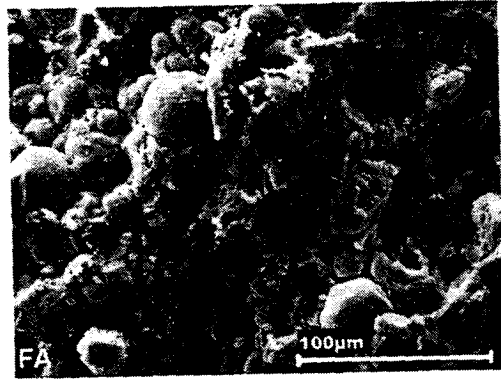
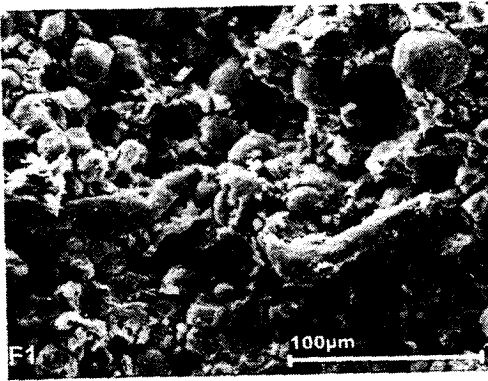
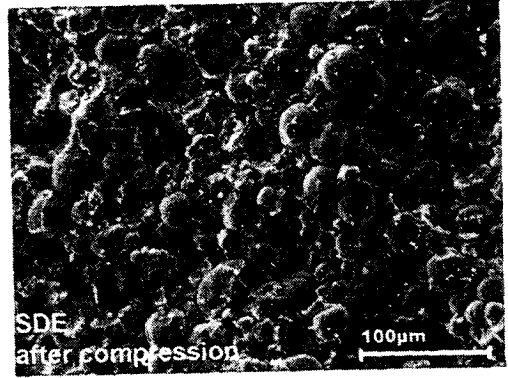
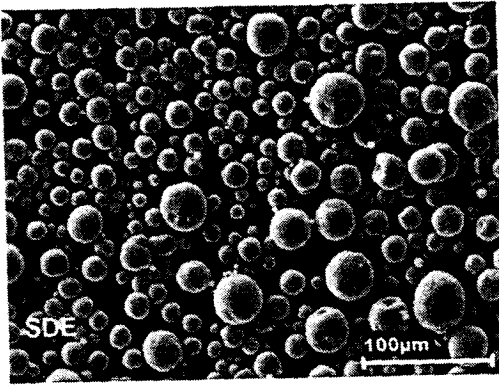


Figure 1: microphotographic of spray dry extract (SDE) and formulations

The most important effect on tensile strength (table 5) was promoted by the filler/binder. The change from Avicel to Emcompress decreased the tensile strength of the tablets. This fact could be explained by their different deformation behavior during compression. The brittle properties of Emcompress seems to form weaker bonds between the particles of the formulation and consequently to reduce the tablet hardness (SUMMERS et al., 1977). These results are in accordance with SCHMIDT and LEITRITZ (1997) who observed that the presence of Emcompress in the formulations tend to decrease the tensile strength of the tablets. DE SOUZA et al. (2000) observed that lactose, also a brittle material, reduced the tensile strength of compacts from *Maytenus ilicifolia* SDE. Otherwise, microcrystalline cellulose is referred as a typical plastic material and increase the hardness of tablets (RAGNARSON, 1996).

Table 5: main effect (E) and interaction (I) of factors on tensile strength (TS) and disintegration time (DT) of the tablets

Effects	Value	
	TS	DT
E <sub>A</sub> (type of disintegrant)	+0.08	+2.04*
E <sub>B</sub> (type of filler/binder)	-0.75*	-2.14*
I <sub>AB</sub>	-0.03	-0.08

\* p < 0.05

Both factors affected significantly the disintegration time, but it was not observed any interaction between them. Although from all formulations resulted tablets with adequate disintegration time, the data indicated that Ac-Di-Sol was able to produce tablets with faster disintegration.

The Avicel as filler/binder and the Ac-Di-Sol as disintegrant were selected to study the influence of the compression force and proportion of disintegrant on compression

and resulting tablets properties. The data for the formulation are presented in table 6. All the tablets showed adequate mechanical characteristics.

Table 6: characteristics of tablets from 2 X 3 factorial design

Formulation*	TS (MPa) $\bar{X} \pm s$	DT (min) $\bar{X} \pm s$	Friability (%)
1	$2.12 \pm 0.07$	$6.77 \pm 0.03$	0.12
2	$1.57 \pm 0.03$	$8.23 \pm 0.12$	0.13
3	$2.28 \pm 0.09$	$10.86 \pm 0.34$	0.10
4	$0.90 \pm 0.07$	$4.67 \pm 0.74$	0.22
5	$0.86 \pm 0.06$	$5.47 \pm 0.60$	0.20
6	$0.95 \pm 0.06$	$7.89 \pm 0.50$	0.19

\* for conditions see table 2

The ANOVA results suggested that compression force was the only factor which influenced the tensile strength and friability of the tablets.

The adjusted equation for tensile strength ( $TS = -0.0183 + 0.000395 \times [\text{Force}]$ ) was statistically acceptable to explain the phenomenon ( $p < 0.05$ ) ( $r^2 = 0.8631$ ). In this case it was observed that the tensile strength of the tablets assumes a linear function of the compression force. The friability of the tablets showed similar behavior, the adjusted equation was represented as a linear function of the compression force. The friability equation ( $Friability = 0.290 - 0.0000315 \times [\text{Force}]$ ) was significant ( $p < 0.05$ ) and the experimental variance could be explained for 92.26 % of the model ( $r^2 = 0.9226$ ).

The ANOVA results for disintegration time (DT) of the tablets indicated that both factors influenced significantly this parameter (figure 2). From the adjusted equation ( $DT = 8.26 - 2.69 \times [\text{AcDiSol}] + 0.0012 \times [\text{Force}] - 0.000075 \times [\text{AcDiSol}] \times [\text{Force}] + 0.29037 \times [\text{AcDiSol}^2]$ ) it is possible to conclude that the linear term of force and of Ac-Di-Sol concentration as well as the quadratic term of Ac-Di-Sol proportion were

important to explain the disintegration time behavior of the tablets. This model showed to be statistically adequate ( $p < 0.013$ ) and the experimental variance could be explained for 99.99 % of the mathematical model ( $r^2 = 0.9999$ ).

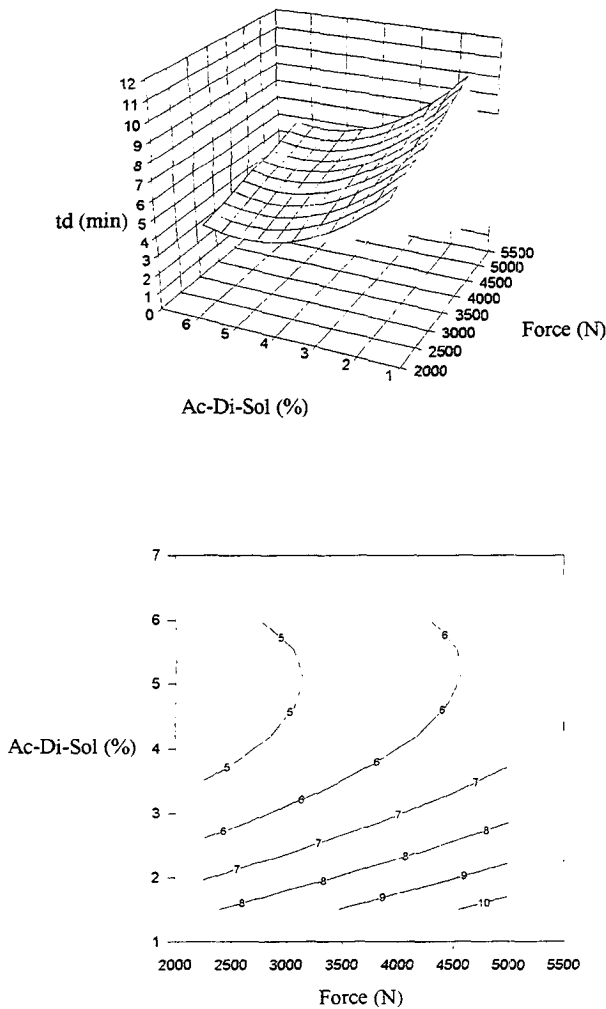


Figure 2: surface response of tablets disintegration time

Figure 2 shows that the compression force exhibited a linear influence on the disintegration time, when the higher the compression force the slower the disintegration time. However, the proportions of Ac-Di-Sol had no linear influence on this parameter. The data showed a tendency to an optimal concentration of Ac-Di-Sol, around 5 %.

#### 4. CONCLUSIONS

This study demonstrated that the compression behavior of *Phyllanthus niruri* spray dried extract was significantly influenced by the type of excipients used, although all formulations showed adequate technological characteristics. The formulations containing Emcompress produced tablets with lower strength than those produced with Avicel at the same compression force, and this can be explained by the fragmentation behavior of Emcompress. The compression force and proportion of disintegrant were other important parameters to the mechanical characteristics of the tablets. The tensile strength and the friability of the tablets were directly influenced by the compression force while the disintegration time was dependent either from compression force or from the proportion of disintegrant.

#### 5. REFERENCES

- CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S.; CECHINEL – FILHO, V.; YUNES, R.E. A Review of the Plants of Genus *Phyllanthus*: Their Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Potencial. **Medical Research Review**, v.18, n. 14, p. 225-258, 1998.
- COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental Designs**. New York: John Wiley & Sons, 1969.



DE SOUZA, T.P.; BASSANI, V.; GONZÁLEZ-ORTEGA, G.; DALLA-COSTA, T.; PETROVICK, P. Influence of Adjuvants on Dissolution Profile of Tablets Containing High Doses of Spray-Dried extract of *Maytenus ilicifolia*. **Pharmazie**, v. 56, n. 9, p. 730-733, 2001.

DE SOUZA, T.P.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P.R. Avaliação da viabilidade de compressão direta de formulações contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 19, n. 2, p. 53-60, 2000.

DOELKER, E. Comparative Compaction Properties of Various Microcrystalline Cellulose Types and Generic Products. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 17 & 18, p. 2399-2471, 1995.

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

HOEPFNER, E.M.; RENG, A.; SCHMIDT, P.C. **Fiedler Encyclopedia of Excipients for Pharmaceutical, Cosmetics and Related Areas**, 5. ed., Germany: Editio Cantor Verlag aulendorf, 2002, v. 1 e v.2.

HUBERTZ-DROZ, P.; MORDIER, D.; DOELKER, E. Rapid Method of Determination of Compression Behavior for Preformulation Studies. **Pharmaceutical Acta Helvetica**, v. 57, p. 136-143, 1982.

LANDÍN, M.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L; SOUTO,C.; CONCEIRO, A.; ROWE, R.C. Effect of Batch Variation and Source of Pulp on the Properties of Microcrystalline Cellulose. **International Journal Pharmaceutics**, v. 91, p. 133-141, 1994.

MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; VILA JATO, J.L. Diseño de un sistema de registro de presión en máquinas de comprimir excéntrica. **Ciencia Industrial Farmacéutica**, v.4, p. 207-211, 1985.

PALMA, S.; LUJÁN, C.; LLABOT, J.M.; BARBOSA, G.; MANZO, R.H.; ALLEMANDI, D.A. Design of *Peumus boldus* tablets by direct compression using a novel dry plant extract. **International Journal Pharmaceutical**, v. 233, n. 1-2, p. 191-198, 2002.

PIFFERI, G.; SANTORO, P.; PEDRANI, M. Quality and Functionality of Excipients. **IL Farmaco**, v.54, p. 1-14, 1999.

RANGNARSON, G. Force-displacement and Network Measurements. In: ALDERBORN, G.; NYSTRÖM, C. (ed.) **Pharmaceutical Powder Compaction Technology**. New York: Marcel Dekker, 1996. Cap. 4.

RENOUX, R.; DEMAZIERES, J.A.; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally Designed Optimization of Direct Compression Tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, n. 2, p. 103-109, 1996.

SCHMIDT, P.C.; LEITRITZ, M. Compression Force/Time-Profile of Microcrystalline Cellulose, Dicalcium Phosphate Dihydrate and their Binary Mixture – A Critical Consideration of Experimental Parameters. **European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical**, v. 44, p. 303-313, 1997.

SOARES, L.A.L. **Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek – Celastraceae.** Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Porto Alegre:

Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2002. Tese de Doutorado.

SUMMERS, M.P.; ENEVER, R.P. y CARLESS, J.E. Influence of Crystals form on Tensile Strength of Compacts of Pharmaceutical Materials. **Journal Pharmaceutical Science**, v. 66, p.1172-1175, 1977.

US Pharmacopeia 25. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD, 2002.

WANDE, A.; WELLER, P.J. **Handbook of pharmaceutical excipients** 2 ed. London: Parmaceutical, 1994.

YLIRUUSI, J.; MERKKU, P.; HELLÉN, L.; ANTIKAINEN, O.K. A New Method to Evaluate the Elastic Behavior of Tablets During Compression. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 1, p. 63-68, 1997.

ACKNOWLEDGEMENT: CNPq, CAPES

**MANUSCRITO: Eudragit E as Excipient for the Production of Granulates and  
Tablets Containing a High Load of a Spray Dried *Phyllanthus  
niruri* L. Extract**

---

Artigo enviado para publicação no periódico *International Journal of  
Pharmaceuticals* (em avaliação sob o número de referência KU – 2169)

**Eudragit E as excipient for the production of granulates and tablets containing a high load of a spray dried *Phyllanthus niruri* L. extract**

T.P. DE SOUZA<sup>a</sup>, R. MARTÍNEZ-PACHECO<sup>b</sup>, J.L. GÓMEZ-AMOZA<sup>b</sup>, P.R. PETROVICK<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brazil.

<sup>b</sup>Departamento de Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela – La Coruña, Spain.

**ABSTRACT**

The aim of this study was to investigate the feasibility of the use of Eudragit E as excipient to obtain granulates and tablets containing a high dose of a spray dried extract from *Phyllanthus niruri*. The granulates were developed with 2.5 %, 5 % and 10 % of Eudragit E by wet granulation and the tablets were produced on a single punch tablet press. The technological properties of the granulates, such as flowability and compressibility, were analyzed. The influence of Eudragit E and compression force on tensile strength, friability and extract release of the tablets were investigated through a 2 x 3 factorial design. The technological characteristics of granulates and tablets were directly dependent of the proportion of Eudragit E in the formulation. The granulates and tablets have exhibited higher resistance to moisture than the original spray dried extract, although the tablets showed a slower release of the extract.

**KEYWORDS**

*Phyllanthus niruri*, spray dried extract, wet granulation, Eudragit E100, Phytopharmaceuticals.

## 1. INTRODUCTION

*Phyllanthus niruri* L. is a medicinal plant widely distributed and used in folk medicine to treat kidney stones and viral hepatitis. Pharmacological experiments confirm its therapeutic efficacy and safety (Calixto et al., 1998). Spray dried extracts from medicinal plants are often used as active component in solid dosage forms because of their better stability (Broadhead et al., 1992). However, these products generally present deficient rheological properties, inadequate compressibility and high sensibility to atmospheric moisture, making their direct compression difficult (Renoux et al., 1996; Palma et al., 2002).

The flow behavior of pharmaceutical powders determines important properties of solid dosage forms. Spray dried extracts often have a small particle size and consequently poor flow, which may result in variation in weight and poor content uniformity of tablets. Particle size can be enlarged by granulation in order to increase the flow rate. This process is indicated to improve the rheological and pharmacotechnical characteristics of these products (De Souza et al., 2000; Soares, 2002).

Eudragit E is a methacrylic ester copolymer broadly used in a variety of pharmaceutical applications as a binder, a film coating to mask taste and odor and to protect the drug from external influences such as light, air and moisture (Petereit and Weibsbrod, 1999). Therefore the use of Eudragit E as granulation excipient for a spray dried extract can be an alternative approach in order to improve compressional properties as well the resistance against moisture of the resulting product (Díaz et al., 1996).

The purpose of this study was to investigate the feasibility of granulation and tableting of a spray dried extract from *Phyllanthus niruri* using Eudragit E as

excipient, and to verify their mechanical properties, and stability when stored at relative humidity of 33 % and 69 %.

## **2. MATERIAL AND METHODS**

### **2.1. Materials**

The spray dried extract of *Phyllanthus niruri* was produced according to a previous described methodology (Soares, 1997). Eudragit E 100® (Rohm) and magnesium stearate (C. Barcia) were used as received.

### **2.2. Wet granulation**

Three granulates were prepared, containing 2,5 %, 5 % and 10 % of Eudragit E. The spray dried extract was kneaded with Eudragit E solution (acetone 12.5 w/v) and the mass forced through a 1 mm screen. The granulates were dried in a circulating air oven at 25 °C for 2 hours, and then sifted through the screen again.

### **2.3. Bulk and tapped densities and Carr's index (IC)**

The densities were determined with a Hosokawa Powder Tester PT-E apparatus (20 minutes at 50 tap/min). The IC was calculated from the values of tapped and bulk densities (Carr, 1965).

### **2.4. True density**

True density was measured with a Quantachrome MPY-2 helium pycnometer.

### **2.5. Granule size distribution**

The granule size was evaluated by sieve analysis using 6 sieves (850, 710, 600, 500, 355 and 250  $\mu\text{m}$ ). The sieves were tumbled with an automatic sieve shaker (Orto Alresa HZ50) for 15 min. The mean granule diameter ( $\bar{\phi}$ ) and standard granulometric deviation ( $\sigma_g$ ) were determined by the arithmetic method (Lantz Jr, 1989).

## 2.6. Granule morphology

The granule morphology was examined by scanning electron microscopy (Leica S440).

## 2.7. Moisture sorption

Samples (approximately 500 mg) of the spray dried extract and of each granulate formulation were stored for 15 days at 25 °C, at relative humidity of 33 % or 69 %. Moisture was maintained with the aid of saturated solution of  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  and KI, respectively (Nyqvist, 1983). The samples were weighted at the first 24 and 48 hours and then after each 72 hours over 15 days.

## 2.8. Preparation of tablets

Six tablet formulations were studied (table 1). In all cases, the granulates were mixed with 0.5 % magnesium stearate (Turbula T2C, 60 rpm, 5 min). Tablets were prepared in a J. Bonals BMT eccentric press equipped with flat-faced 9 mm punches and a data handling system (Martínez-Pacheco et al., 1985). The press was set to produce eight tablets per min, and loading depth was adjusted to obtain tablets with a spray dried extract content of 250 mg.

Table 1: Description of the studied formulations and compression conditions

Formulation	Eudragit E (%)	Compression force (N)
E2.5(1250)	2,5	1250
E2.5(2500)	2,5	2500
E5(1250)	5,0	1250
E5(2500)	5,0	2500
E10(1250)	10,0	1250
E10(2500)	10,0	2500



## 2.9. Tensile strength

Hardness of six tablets was measured with an Erweka TB-2A apparatus. The tensile strength for each tablet formulation was calculated using equation 1 (Fell and Newton, 1970; Summers et al., 1977).

$$TS = \frac{2P}{\pi Dt} \quad (\text{Eq. 1})$$

where TS is the tensile strength ( $\text{N}\cdot\text{cm}^{-2}$ ), P is the hardness of the tablet (N), D is the tablet diameter (cm), and t is the tablet thickness (cm). The tablet diameter and thickness were measured with a digital micrometer (Mytutoyo).

## 2.10. Tablet porosity

The tablet total porosity was calculated from the granulate true density and tablet volume (Martin et al., 1993).

## 2.11. Friability

The friability was determined with a Pharma Test PTF-E apparatus following the USP 25 specifications (US Pharmacopeia, 2002).

## 2.12. Dissolution

The release of spray dried extract from the tablets was determined in a Turu-Grau apparatus in accordance with the USP 25 specifications (method II, stirring at 100 rpm). The dissolution medium was enzyme-free artificial gastric fluid (US Pharmacopeia, 2002). The analysis of the spray dried extract content was realized by direct spectrophotometry at 275 nm (Couto, 2000). The release was characterized as the percentage of spray dried extract dissolved after 60 min ( $D_{60}$ ) (Khan, 1975).

## 2.13. Stability

This assay evaluated the moisture sorption and mechanic properties of tablets stored for 15 days at 25 °C and relative humidity of 33 % and 69 %. The assay was

realized only for the formulation that showed better technological characteristics. Tablets containing 99.5 % of spray dried extract and 0.5 % magnesium stearate were submitted to this assay for comparative purpose. The tensile strength and the friability of the tablets were evaluated. The dissolution profile was verified measuring the dissolution efficiency (Khan, 1975).

#### **2.14. Experimental design and statistical analysis**

The study was planned using a 2 x 3 factorial design with two factors (compression force and proportion of Eudragit E). The effect of the compression force was analyzed at two levels and the proportion of Eudragit E at three levels (table 1). The effects of these factors on tensile strength, friability and release of spray dried extract ( $D_{60}$ ) were investigated by stepwise multiple regression analysis (Cochran and Cox, 1969), performed by the Statistical Package for Social Sciences (SPSS for Windows, version 11.0). The response surface curves were obtained from adjusted equations and the graphs were plotted using SigmaPlot® version 8.0.

### **3. RESULTS AND DISCUSSION**

Table 2 shows the mechanical properties data of the granulates. The results indicate good compressibility for all granulates (Wells, 1988). However, the developed granulates did show different technologic behavior when submitted to statistical analysis. The increment of Eudragit E in the formulations seems to improve their flow properties and consequently their compressibility. The increase of the excipient amount in the formulation, from 2.5 to 10 %, resulted in an enhancement of the granule diameter, which may explain the improvement of granule mechanical properties (Planinsek et al., 2000).

Table 2: Measured characteristics of granulates

Characteristic	GRED2.5%	GRED5.0%	GRED10%
	$\bar{X} \pm s$	$\bar{X} \pm s$	$\bar{X} \pm s$
$d_0$ (g/ml)	$0.367^c \pm 0.010$	$0.435^b \pm 0.020$	$0.493^a \pm 0.010$
$d_{20}$ (g/ml)	$0.529^{bc} \pm 0.010$	$0.549^b \pm 0.010$	$0.591^a \pm 0.010$
$d_{true}$ (g/cm <sup>3</sup> )	$1.542^a \pm 0.010$	$1.571^a \pm 0.015$	$1.565^a \pm 0.009$
IC	$30.650^a \pm 0.850$	$20.790^b \pm 1.170$	$16.570^c \pm 0.550$
$\bar{\varnothing}$ ( $\mu\text{m}$ ) $\pm \sigma_g$	$679 \pm 314$	$680 \pm 336$	$806 \pm 249$

$d_0$  = bulk density,  $d_{20}$  = tapped density,  $d_{true}$  = true density, IC = Carr's index.  $\bar{\varnothing}$  = mean size diameter,  $\sigma_g$  = standard granulometric deviation. Mean values in a line followed by the same letter did not differ significantly (Tukey test;  $\alpha = 0.01$ )

The electronic microphotography (figure 1) indicates that wet granulation do not change the shape of the original spray dried extract particles. Inside the granulates it was possible to observe the preservation of the spherical particles of the spray dried product.

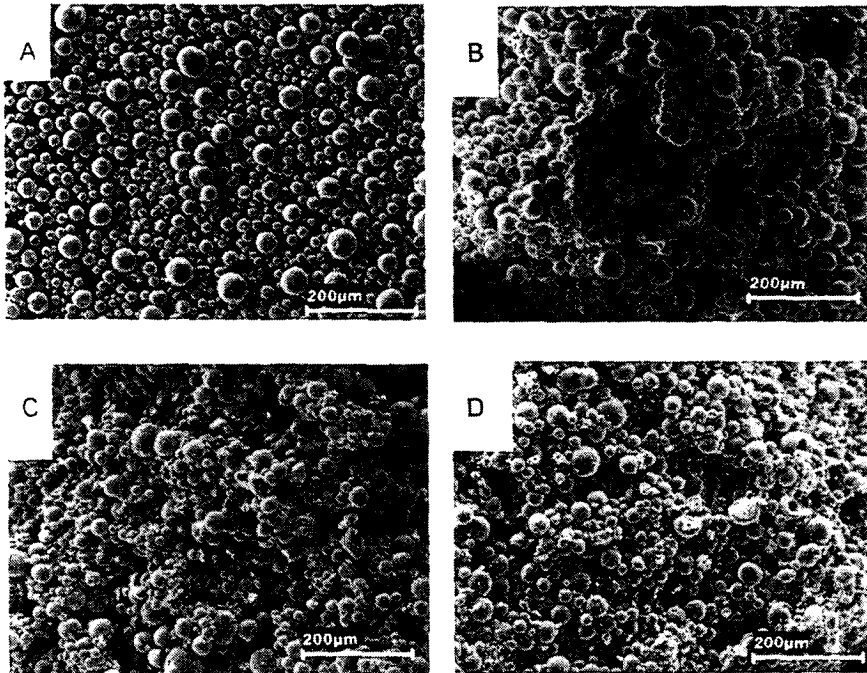


Figure 1: electronic microphotography of spray dried extract (A) and granulates containing 2.5% (B), 5 % (C) and 10% (D) of Eudragit E

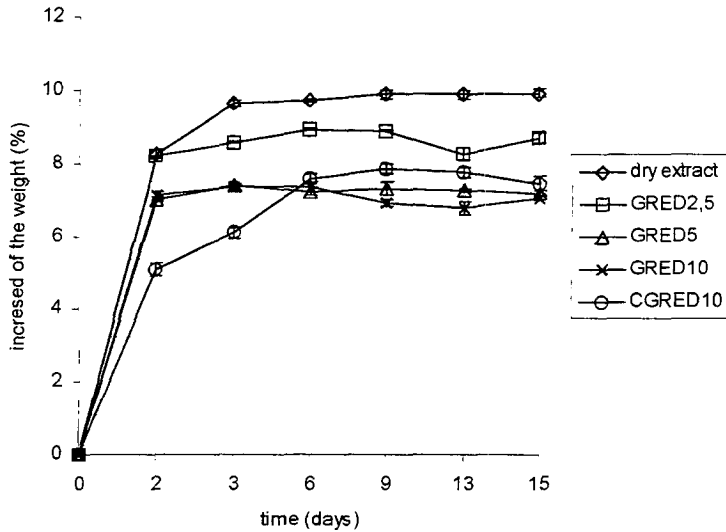


Figure 2: weight increase of the spray dried extract of *Phyllanthus niruri* (dry extract), granulates containing 2.5 %, 5 % and 10 % (GRED) of Eudragit E and tablets containing granulate with 10 % of Eudragit E (CGRED10) when stored at 25 °C and at relative humidity of 69 %

The spray dried extract did exhibit a high sensibility to moisture exposure. When stored at 25 °C at a relative humidity (RH) of 69 % it showed a weight increase of almost 10 %, became brownish and started to agglomerate (figure 2). The granulates stored at RH of 69 % showed significant ( $\alpha = 0.05$ ) lower weight increase than the spray dried extract, and the inclusion of Eudragit E produced less moisture sensible granulates depending on its proportion. On the other hand, it was observed that the tablets moisture sorption in the first 24 exposition hours was almost 2 % smaller than for the respective granulates. However, after six days the moisture

sorption profiles were similar. Both, spray dried extract granulates and tablets, did not change neither in weight nor in composition when stored at RH of 33 %.

The mechanical characteristics of the tablets are recorded in table 3. The total porosity seems to show some correlation with tensile strength, friability and  $D_{60}$ , with correlation coefficients ( $r^2$ ) of 0.8071, 0.9084, and 0.7395, respectively. In spite of the low values of correlation, the statistical analysis indicated significant correlation ( $\alpha = 0.1$ ) between these parameters. Generally, tablets with high porosity tend to have a low tensile strength, high friability and consequently easier release of its content because the porous bed allows a major caption of water and consequently faster dissolution of the solutes (Caramella et al., 1990).

Table 3: Technological characteristics of the tablets

Tablet	TS (MPa) $X \pm s$	Friability (%)	Total porosity (%)	$D_{60}$ (%) $X \pm s$
E2.5(2500)	$1.19 \pm 0.110$	0.12	23.30	$42.74 \pm 1.21$
E2.5(1250)	$0.66 \pm 0.068$	0.43	26.93	$41.67 \pm 1.22$
E5(2500)	$1.26 \pm 0.067$	0.26	24.37	$39.23 \pm 0.54$
E5(1250)	$0.59 \pm 0.065$	0.61	30.87	$41.40 \pm 1.32$
E10(2500)	$1.17 \pm 0.038$	0.18	27.87	$39.35 \pm 2.34$
E10(1250)	$0.55 \pm 0.038$	0.82	34.00	$78.75 \pm 3.09$

TS = tensile strength;  $D_{60}$  = dissolution of the extract after 60 min.

As can be observed in figure 3, the tablets released the spray dried extract slowly. Both compression force and Eudragit E proportion significantly ( $p < 0.05$ ) affected the release of the extract (figure 4). The adjusted equation was (equation 2):

$$D_{60} = 22.248 + 1.603 \cdot 10^{-2} \cdot F + 2.949 \cdot E - 4.568 \cdot 10^{-3} \cdot F \cdot E + 0.629 \cdot E^2 \text{ (Eq. 2)}$$

where  $D_{60}$  = extract dissolution (mg%/min),  $F$  = compression force (N) and  $E$  = Eudragit E proportion (%). In accordance to the multiple correlation coefficients approximately 95.3% of the method variance could be explained by the proposed mathematical model ( $r^2 = 0.9530$ ). Although the two factors affected the release of

the extract, the Eudragit E proportion was the most important source on the observed results (figure 4). The formulation showing the higher extract release was originated from granulates made with 10 % of Eudragit E and compressed at 1250 N. This formulation exhibited the highest porosity (Díaz et al., 1996; Caramella et al., 1990).

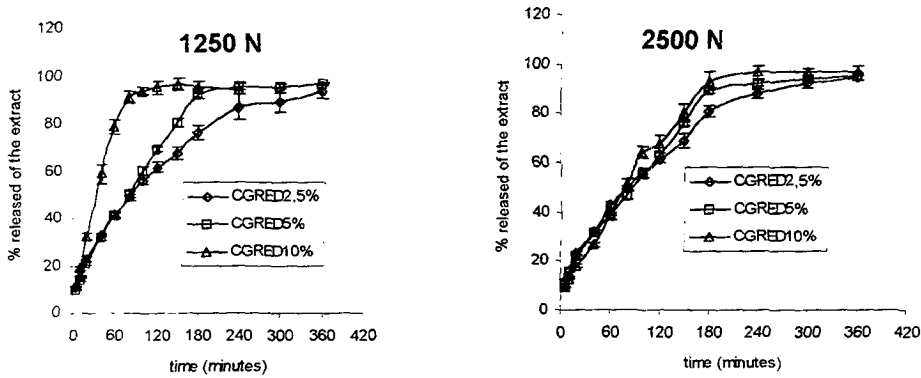


Figure 3: dissolution profile of the tablets in accordance the compression force

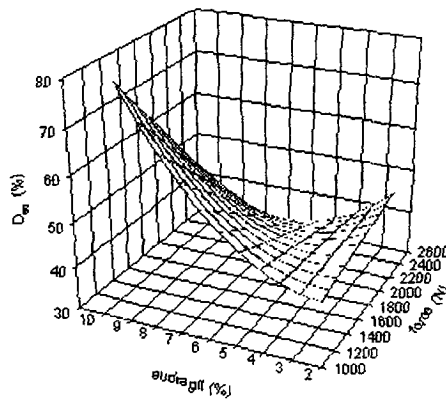


Figure 4: response surface plot of percentage of release of spray dried extract in 60 minutes ( $D_{60}$ )

The tensile strength behavior (TS;  $N \cdot cm^{-2}$ ) can be described by the equation 3:

$$TS = 3.026 \cdot 10^{-2} + 4.852 \cdot 10^{-4} \cdot F - 7.748 \cdot 10^{-4} \cdot E^2 \quad (\text{Eq. 3})$$

where 94.9 % of the experimental variance could be explained by this model ( $r^2 = 0.9490$ ). The statistical analysis indicated that both variants significantly ( $p < 0.05$ ) affected the tensile strength. However, through the response surface analysis it could be verified that the compression force is the most important factor on this characteristic (figure 5).

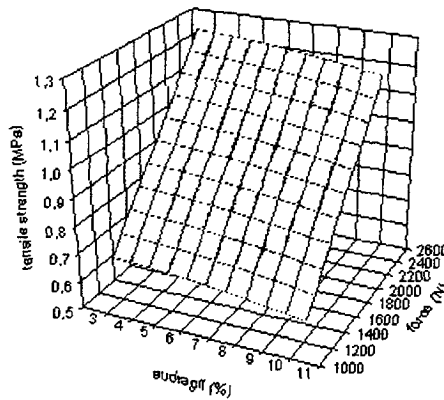


Figure 5: response surface plot of tensile strength of the tablets

The tablets presented different friability (Fr; %). The statistical analysis indicated only the compression force as a significant factor ( $p < 0.05$ ). The adjusted model could be described by (equation 4):

$$Fr = 1.053 - 3.467 \cdot 10^{-4} \cdot F \quad (\text{Eq. 4})$$

where the experimental variance could be explained for only 77 % by the model. The weak correlation coefficient ( $r^2 = 0.7660$ ) may be explained by the intrinsic high variability of the friability assay. The response surface plot for friability (figure 6) confirms that compression force was the determinant factor. The friability of the

tablets decreased with the increase of the compression force. Furthermore, a statistically ( $p < 0.05$ ) negative correlation was observed between tablet friability and tensile strength ( $r^2 = 0.9021$ ).

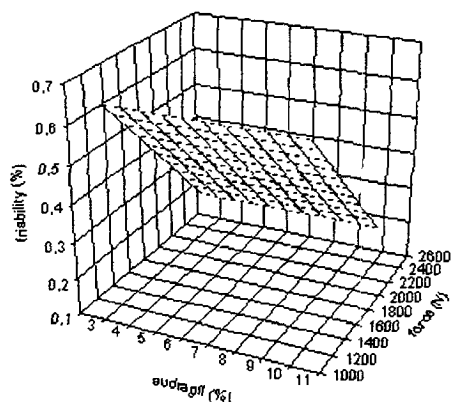


Figure 6: response surface of friability of the tablets

The tablet submitted to the moisture stability test was originated from granulates containing 89.5 % of spray-dried extract, 10 % of Eudragit E and 0.5 % of magnesium stearate (table 1) and was compressed at 1250 N. This formulation showed the best technological characteristics and the fastest extract release.

To verify the ability of Eudragit to protect the spray dried extract against moisture, and also to preserve the mechanical properties of tablets, a direct compressed formulation was produced without Eudragit E. Both tablet formulations were comparatively evaluated.

The results of the mechanical characteristics of the tablets were represented in table 4.



Table 4: Properties of the tablets before and after the exposure to different relative humidity (mean value  $\pm$  standard deviation)

Formulation	Relative humidity (%)		
	before	33	69
	Tensile strength (MPa)		
Cdryextract	1.09 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	1.29 <sup>b</sup> $\pm$ 0.11	0.65 <sup>c</sup> $\pm$ 0.06
CGED10	0.77 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.84 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	0.54 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05
	Friability (%)		
Cdryextract	0.19	0.23	0.37
CGED10	0.82	0.84	0.99
	Dissolution efficiency (%)		
Cdryextract	65.80 <sup>a</sup> $\pm$ 1.10	68.28 <sup>a</sup> $\pm$ 2.30	45.52 <sup>b</sup> $\pm$ 3.85
CGED10	61.74 <sup>a</sup> $\pm$ 2.01	63.32 <sup>a</sup> $\pm$ 1.63	61.26 <sup>a</sup> $\pm$ 3.95

Cdryextract – tablets containing spray-dried extract without Eudragit E, CGED10 – tablets originated from granulate of spray-dried extract and 10 % of Eudragit E. Mean values in the same row followed by the same letter did not differ statistically (Tukey test;  $\alpha = 0.01$ )

Both tablets, when stored at 25 °C and RH of 33 %, did not change significantly their characteristics, except that the tablet without Eudragit showed an increase in tensile strength, which did not affect the dissolution efficiency. On the other hand, storage of both tablets at RH of 69 % at the same temperature resulted in significant decrease of tensile strength. However, only tablets without Eudragit showed alterations on dissolution efficiency (figure 7). These results suggest that Eudragit E have protected the tablet content from the atmospheric variability.

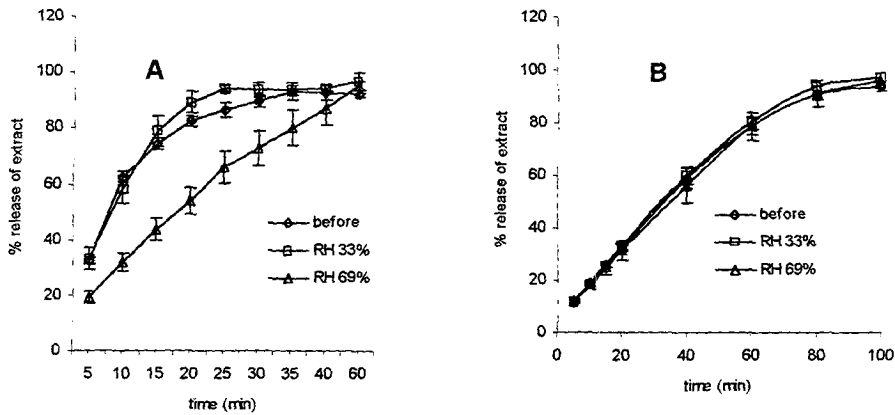


Figure 7: release profile of tablets containing only spray dried extract (A) tablets containing spray dried extract plus Eudragit E (B) before and after stored at 25 °C and relative humidity (RH) of 33 % or 69 %

#### 4. CONCLUSIONS

The granulate obtained with Eudragit E as binder and protective barrier showed suitable tableting properties, demonstrated by the improvement of flowability and lower moisture sorption behavior in comparison to the original spray dried extract. The tablets showed adequate mechanical properties, which were not affected by atmospheric humidity. However, the release of the extract from the tablets was affected being dependent of Eudragit E proportion in the granulates and compression force. Finally, this study showed the feasibility of the use of the Eudragit E in order to obtain solid dosage forms containing a high load of a spray dried extract from a medicinal plant. Additional studies are needed to further optimize the formulations and to improve the release of the extract from the tablets.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank CAPES, CNPq and FAPERGS for financial support and Prof. Dr. H. Derendorf (University of Florida) for comments.

## REFERENCES

- Broadhead, J., Rouan, S.K.E., Rhodes, C.T., 1992. The spray-drying of pharmaceuticals. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18, 1169-1206.
- Calixto, J.B., Santos, A.R.S., Cechinel Filho, V., Yunes, R.A., 1998. A review of the genus *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential. *Med. Res. Rev.* 18, 225-258.
- Caramella, C., Ferrari, F., Bounferoni, M.C., Rouchi, M., 1990. Disintegrants in solid dosage forms. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16, 2561-2577.
- Carr, R. L., 1965. Evaluation of flow properties of solids. *Chem. Eng.* 72, 163-168.
- Cochran, W.G., Cox, G.M., 1969. *Experimental designs*. 2nd ed. John Wiley, New York.
- Couto, A.G. Desenvolvimento e avaliação tecnológica de granulados contendo produto seco nebulizado de *Phyllanthus niruri* L. – Euphorbiaceae (quebra-pedra). Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 2000. Dissertação de Mestrado.
- De Souza, T.P., González Ortega, G., Bassani, V. L., Petrovick, P.R., 2000. Avaliação da viabilidade de compressão direta de formulações contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*. *Acta Farm. Bonaer.* 19, 53-60.
- Díaz, L.M., Souto, C., Concheiro, A., Gómez-Amoza, J.L., Martínez-Pacheco, R., 1996. Evaluation of Eudragit E as major excipient in tablets of dry plant extracts. *S.T.P. Pharma. Sciences* 6, 105-109.

- Fell, J.T., Newton, J.M., 1970. Determination of tablets strength by diametral-compression test. *J. Pharm. Sci.* 59, 688-691.
- Khan, K.A., 1975. The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.* 27, 48-49.
- Lantz Jr., R.J., 1989. Size reduction. In: Lieberman, H.A., Lachman, I., Schwartz, J.B. (Ed.) *Pharmaceutical dosage forms: tablets*. 2nd ed. Vol. 2, Chap. 3, Marcel Dekker, New York, pp. 107-199.
- Martin, A., Bustamante, P., Chun, A.H., 1993. *Physical Pharmacy*. 4th. ed. Lea & Febiger, London.
- Martínez-Pacheco, R., Gómez-Amoza, J.L., Vila Jato, J.L., 1985. Diseño de un sistema de registro de presión en máquinas de comprimir excéntrica. *Cienc. Ind. Farm.* 4, 207-211.
- Nyqvist, H., 1983. Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. *Int. J. Pharm. Tech. Prod. Mfr.* 4, 47-78.
- Palma, S., Luján, C., Llabot, J.M., Barbosa, G., Manzo, R.H., Allemandi, D.A., 2002. Design of *Peumus boldus* tablets by direct compression using a novel dry plant extract. *Int. J. Pharm.* 207, 191-198.
- Petereit, H.U., Weibsbrod, W., 1999. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 47, 15-25.
- Planinsek, O., Pisek, R., Trojak, A., Srcic, S., 2000. The utilization of surface free energy parameters for the selection of a suitable binder in fluidized bed granulation. *Int. J. Pharm.* 207, 77-88.

Renoux, R., Demazieres, J.A., Cardot, J.M., Aiache, J.M., 1996. Experimentally designed optimization of direct compression tablets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 22, 103-109.

Soares, L.A.L., 1997. Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (quebra-pedra). M.Sc.Thesis, Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Soares, L.A.L., 2002. Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek – Celastraceae. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Ph.D Thesis, Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, Brazil.

Summers, M.P., Enever, R.P., Carless, J.E., 1977. Influence of crystals form on tensile strength of compacts of pharmaceutical materials. *J. Pharm. Sci.* 66, 1172-1175.

US Pharmacopeia 25, 2002. United States Pharmacopeial Convention, Rockville, MD.

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

**MANUSCRITO: Otimização Tecnológica de Comprimidos com Alto Teor de  
Produto Seco por Aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri* L  
Contido em Granulados**

---

Artigo em preparação para ser enviado para publicação, após versão inglesa, no periódico *Drug Development and Industrial Pharmacy*

OTIMIZAÇÃO TECNOLÓGICA DE COMPRIMIDOS COM ALTO TEOR DE PRODUTO SECO POR ASPERSÃO (PSA) DE *PHYLLANTHUS NIRURI* L. CONTIDO EM GRANULADOS

DE SOUZA, T.P.<sup>1</sup>; MARTÍNEZ-PACHECO, R.<sup>2</sup>; GÓMEZ-AMOZA, J.L.<sup>2</sup>; PETROVICK, P.R.<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela – La Corunã, España.

RESUMO: Comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspensão (PSA) de *P. niruri* (71,43 %) na forma de granulado foram desenvolvidos utilizando estearato de magnésio, croscarmelose sódica e celulose microcristalina como adjuvantes presentes na fase externa. A otimização da formulação foi feita de modo a determinar a proporção de estearato de magnésio e croscarmelose sódica, bem como a força de compressão mais apropriada para a obtenção de comprimidos com adequadas características tecnológicas. O primeiro estudo avaliou a influência das proporções de estearato de magnésio e da croscarmelose sódica sobre a resistência mecânica, a friabilidade e o tempo de desintegração dos comprimidos e foi realizado através de um desenho composto central. O segundo verificou a influência da força de compressão e da proporção de croscarmelose sódica nas características mecânicas dos comprimidos, sendo executado através de um modelo fatorial 3<sup>2</sup>, onde três forças de compressão e três proporções do desintegrante foram avaliadas. Os experimentos foram analisados através de análise de regressão polinomiais. No primeiro estudo, os resultados demonstraram que a resistência dos comprimidos sofreu uma influência significativa da proporção de estearato de magnésio presente na formulação, enquanto que o tempo de desintegração foi influenciado apenas pela proporção de croscarmelose sódica. No estudo sobre a força de compressão e concentração de croscarmelose sódica, verificou-se que a resistência mecânica dos comprimidos sofreu influência significativa da força de compressão, sendo a friabilidade dependente do mesmo fator, enquanto que o tempo de desintegração

sofreu influência significativa tanto da força de compressão como proporção de croscarmelose sódica.

**PALAVRAS CHAVES:** produto seco por aspersão, *Phyllanthus niruri*, granulados, planejamento fatorial, compressão

## 1. INTRODUÇÃO

A grande dificuldade de desenvolvimento de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão, obtidos a partir de extratos vegetais, está no fato de este produto, em geral, não apresentar características tecnológicas adequadas para a compressão (RENOUX e col., 1996; DE SOUZA e col., 2001, PALMA e col. 2002). Produtos secos de origem vegetal, geralmente, consistem de pós muito finos com elevada tendência à sorção de umidade e com dificuldades de fluidez e compressão (CASADEIBAG, 1987; PETROVICK e col., 1995; LINDEN e col., 2000). No entanto, a necessidade de elaboração de comprimidos com alto teor desse produto deve-se ao fato de que, geralmente, as substâncias ativas estão presentes em pequenas quantidades nos mesmos, exigindo assim uma alta dosagem a fim de garantir o efeito terapêutico (RENOUX e col., 1996).

A espécie vegetal *Phyllanthus niruri*, popularmente conhecida como quebra-pedra, amplamente utilizada pela medicina tradicional, apresenta estudos farmacológicos que comprovam seu efeito terapêutico contra litíase renal (CALIXTO e col., 1998). A partir do extrato aquoso dessa espécie foi desenvolvido um produto seco por aspersão com a finalidade de obtenção de uma forma farmacêutica sólida (SOARES, 1997). Além das dificuldades, inerentes ao próprio produto, para elaboração de uma forma farmacêutica sólida, faz-se necessário a escolha adequada qualitativa e quantitativa dos adjuvantes da formulação, bem como das condições de compressão (COUTO, 2000; LINDEN e col., 2000, SOARES e col., 2003).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*, aplicando desenhos fatoriais e modelos de superfície de respostas, bem como identificar os fatores que apresentam maior influência nas características tecnológicas dos produtos obtidos.



## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Matérias-primas

O Produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* (PSA) foi obtido seguindo metodologia descrita por SOARES (1997) utilizando aparelho de secagem por aspersão Niro Atomizer Production Minor. Os adjuvantes celulose microcristalina (Avicel® PH 101 – FMC), croscarmelose sódica (Ac-Di-Sol® - FMC), estearato de magnésio (fornecido por C. Barcia S.A.) foram usados como recebidos.

### 2.2 Granulação

O complexo farmacêutico (CF) foi obtido pela mistura de PSA do *Phyllanthus niruri* (98 %) com estearato de magnésio (1%) e dióxido de silício coloidal (1%) durante 5 minutos, em misturador tipo V acoplado a motor multiuso (Erweka AR 400). Cada briquete foi obtido através da compressão direta de 800 mg de CF em máquina de comprimir alternativa (Korsch EK-0) equipada com alimentador e dotada de punções simples, circulares, facetados com 15 cm de diâmetro. A granulação dos compactos foi realizada em granulador a seco dotado de rolos sulcados (Erweka tipo TGIIS), seguido de cominuição em granulador oscilatório (Erweka tipo FG). A calibração foi realizada visando obter granulados com distribuição granulométrica abaixo de 1.0 mm e acima de 0.25 mm.

### 2.3 Obtenção dos comprimidos

*Seleção da proporção de estearato de magnésio e croscarmelose sódica presentes na fase externa da formulação*

O estudo de otimização da proporção de estearato de magnésio (EST) e croscarmelose sódica (CCS) nos comprimidos foi realizado através de um desenho composto central (tabela 1) onde as variáveis dependentes analisadas foram resistência corrigida (REC), friabilidade e tempo de desintegração.

Tabela 1: matriz do desenho composto central

Experimento	EST (codificado)	CCS (codificado)	EST (% m/m)	CCS (% m/m)
1	-1	-1	0.5	2.5
2	+1	-1	1.9	2.5
3	-1	+1	0.5	7.5
4	+1	+1	1.9	7.5
5	0	0	1.2	5
6	0	0	1.2	5
7	0	0	1.2	5
8	+1.414	0	2.19	5
9	-1.414	0	0.21	5
10	0	+1.414	1.2	8.54
11	0	-1.414	1.2	1.46

Para garantir uma mistura homogênea da formulação foi selecionada a faixa granulométrica entre 0.750 e 0.250 mm do granulado de PSA. Uma proporção de grânulos de PSA fixada em 71.43 % foi misturada com estearato de magnésio (EST) e croscarmelose sódica (CCS), nas proporções ponderais descritas na tabela 1, e celulose microcristalina em quantidade suficiente para completar 100 %. A mistura dos grânulos de PSA com croscarmelose sódica e celulose microcristalina foi realizada em um misturador Turbula Mixer (T2C-Willy A. Bachhofen) por 20 minutos, seguida da adição do estearato de magnésio com mais 5 minutos de mistura. Os comprimidos foram produzidos através da pesagem individual de 300,0 mg de cada formulação e compressão em máquina de comprimir excêntrica J. Bonals instrumentalizada (MARTÍNEZ – PACHECO e col., 1985), dotada de punções planos de 9 mm de diâmetro, com acionamento automático. A velocidade de compressão foi fixada em ciclos de 8 comprimidos por minuto e força de compressão em 8000 N.

*Influência da força de compressão e proporção de croscarmelose sódica nas características mecânicas dos comprimidos.*

Este estudo foi realizado seguindo um modelo fatorial  $3^2$  tendo força de compressão e proporção de croscarmelose sódica (CCS) como variáveis independentes (tabela 2) e resistência corrigida, friabilidade e tempo de desintegração dos comprimidos como variáveis dependentes. Os comprimidos foram obtidos do mesmo modo descrito acima, sendo que a proporção de grânulos de PSA foi fixada em 71.43 %, de estearato de magnésio em 0.5 % e celulose microcristalina foi utilizada como

material de carga/aglutinante em quantidade suficiente para completar 100 % da formulação.

Tabela 2: matriz de desenho fatorial  $3^2$

experimento	Força (codificada)	CCS (codificada)	Força (N)	CCS (%, m/m)
1	-1	-1	4000	2.5
2	-1	0	4000	5.0
3	-1	+1	4000	7.5
4	0	-1	6000	2.5
5	0	0	6000	5.0
6	0	+1	6000	7.5
7	+1	-1	8000	2.5
8	+1	0	8000	5.0
9	+1	+1	8000	7.5

#### 2.4 Caracterização dos comprimidos

##### *Resistência corrigida (REC)*

A resistência ao esmagamento radial foi determinada em seis comprimidos utilizando o equipamento Erweka TB-2A. A partir desses dados e dimensões dos comprimidos, calculou-se a REC (FELL e NEWTON, 1970; SUMMERS e col., 1977).

##### *Friabilidade*

A friabilidade foi determinada, em um equipamento Pharma Test PTF-E, conforme a USP 25.

##### *Tempo de desintegração*

O tempo de desintegração foi realizado em equipamento Turu Grau DT-1, de acordo com USP 25, utilizando água a 37 °C como meio de desintegração.

#### 2.5 Estudo do comportamento frente à exposição em ambiente com temperatura e umidade relativa controladas

Avaliou-se a sorção de água e as propriedades mecânicas de comprimidos após armazenados, por 15 dias, em ambiente com temperatura de 25 °C e umidade relativa controlada de 69 %. O ambiente com umidade relativa controlada foi obtido através de solução saturada com resíduo de iodeto de potássio (KI)

(NYQVIST, 1983). Este ensaio foi realizado com a formulação otimizada a partir dos modelos matemáticos obtidos nos estudos fatoriais. Em termos de comparação, também, foram submetidas ao ensaio amostras de, aproximadamente, 500 mg do produto seco por aspersão e do granulado seco.

Os comprimidos foram analisados com relação à resistência corrigida (REC), friabilidade, tempo de desintegração e perfil de cedência. A liberação do PSA foi determinada em equipamento Turu-Grau de acordo com especificações da USP 25 (método 2, velocidade de agitação de 100 rpm). O meio de dissolução foi o suco gástrico artificial sem enzimas (USP 25). A determinação da concentração de PSA foi realizada por medição direta em espectrofotômetro em 275 nm, utilizando como branco suco gástrico artificial (COUTO, 2000).

## 2.6 Análise estatística

Os resultados foram analisados através de análise de regressão múltipla (COCHRAN e COX, 1978), curvas de superfície de respostas e gráficos de contornos construídos a partir das equações ajustadas pela regressão. A análise estatística foi realizada com auxílio do programa estatístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for Windows versão 11.0 e os gráficos de superfície de respostas e contornos foram elaborados no programa SigmaPlot® versão 8.0. A análise de validação dos modelos foi realizada de acordo com os critérios descritos por WEHRLE e colaboradores (1995) (tabela 3).

Tabela 3: critérios para validação dos modelos matemáticos (Wehrle e col., 1995)

ANOVA	$r^2$	Falta de ajuste	validação
$p < 0.1$	$r^2 > 0.9$	-	sim
$p < 0.1$	$0.7 < r^2 < 0.9$	$p > 0.01$	sim
$p < 0.1$	$0.7 < r^2 < 0.9$	$p < 0.01$	não
$p < 0.1$	$r^2 < 0.7$	-	não
$p > 0.1$	-	-	não

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das características mecânicas dos comprimidos estão descritos na tabela 4. Verifica-se que, de um modo geral, os comprimidos apresentaram-se pouco friáveis e com rápida desintegração, mostrando friabilidade abaixo de 0.27 % e tempo de desintegração abaixo de 13.72 min.

Tabela 4: características dos comprimidos obtidos através do desenho composto central

Experimento	REC (MPa) $X \pm s$	Friabilidade (%)	TD (min) $X \pm s$
1	2.70 ± 0.16	0.07	10.72 ± 0.57
2	2.15 ± 0.05	0.17	9.93 ± 0.79
3	2.52 ± 0.19	0.13	7.77 ± 0.57
4	2.08 ± 0.12	0.23	7.50 ± 0.55
5	2.23 ± 0.11	0.20	8.65 ± 0.38
6	2.34 ± 0.14	0.20	8.77 ± 0.36
7	2.31 ± 0.12	0.20	8.43 ± 0.46
8	1.88 ± 0.12	0.27	10.50 ± 0.555
9	2.76 ± 0.13	0.13	8.40 ± 0.33
10	2.14 ± 0.11	0.23	7.88 ± 0.28
11	2.22 ± 0.11	0.17	13.72 ± 0.45

REC – resistência corrigida, TD = tempo de desintegração

A intenção da primeira parte deste estudo foi a de encontrar as concentrações ótimas de estearato de magnésio e croscarmelose sódica para elaboração de comprimidos contendo alta dose de PSA de *Phyllanthus niruri*. As repostas estudadas foram ajustadas através de um modelo matemático polinomial de segunda ordem, de acordo com a equação 1:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 \cdot EST + \beta_2 \cdot CCS + \beta_{12} \cdot EST \cdot CCS + \beta_{11} \cdot EST^2 + \beta_{22} \cdot CCS^2 \quad (1)$$

onde y = resposta estudada,  $\beta_0, \dots, \beta_{22}$  = coeficientes, EST = proporção de estearato de magnésio, CCS = proporção de croscarmelose sódica

Os dados da resposta REC ajustados através do modelo quadrático ( $REC = 2.91 - 0.62 EST + 0.03 CCS + 0.01 EST \times CCS + 0.06 EST^2 - 0.006 CCS^2$ ) revelou um coeficiente de correlação múltipla significativo ( $p = 0.0035$ ), onde cerca de 94 % da variância experimental pode ser explicada pelo modelo proposto ( $r^2 = 0.9460$ ). O teste de falta de ajuste, para este modelo, apresentou resultado não significativo ( $p = 0.06$ ) validando a equação proposta. Sendo assim, justifica-se que a variação observada entre os valores experimentais e os valores estimados através do modelo quadrático foi decorrente de erros aleatórios. No entanto, de acordo com o teste t de Student apenas o coeficiente linear da proporção de estearato de magnésio (EST) apresentou significância estatística ( $p=0.02$ ) para a REC.

Isso significa que a resistência dos comprimidos foi influenciada apenas pela proporção de estearato de magnésio presente na formulação (figura 1), sendo observada uma influência negativa do mesmo, uma vez que o aumento da proporção de estearato de magnésio causou uma redução da REC dos comprimidos.

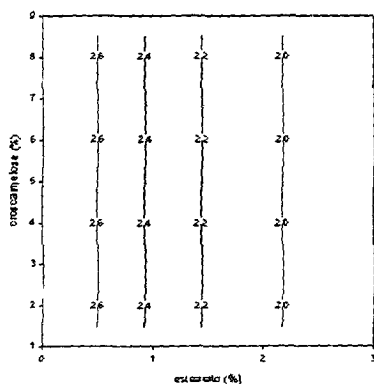


Figura 1: gráfico de contornos para a resistência corrigida (REC) dos comprimidos.

Conforme observado por SHESKEY e colaboradores (1995), em estudos sobre a influência do nível de estearato de magnésio sobre as características de comprimidos contendo hipromelose, a diminuição da resistência dos comprimidos pode ser explicada pela formação do filme de estearato de magnésio na superfície das partículas que compõe a formulação, o que produz uma ligação mais fraca entre as mesmas culminando com a formação de compactos menos resistentes (WILLIAMS e MCGINITY, 1989).

Com relação a friabilidade dos comprimidos, o modelo quadrático ( $FRB = -0.023 + 0.132 EST + 0.030 CCS + 5.97 \times 10^{-7} EST \times CCS - 0.025 EST^2 - 0.002 CCS^2$ ), apesar de exibir baixo coeficiente de correlação ( $r^2 = 0.8312$ ), foi significativo com valor de  $p = 0.052$  e, não apresentando falta de ajuste ( $p = 0.055$ ), foi validado. No entanto, segundo o teste t de Student nenhum dos coeficientes apresentou valor estatisticamente significativo, todos mostram  $p > 0.1$ . Esse resultado indica que, embora a equação sirva para demonstrar a friabilidade dos comprimidos, nenhum dos fatores estudados apresentou influência significativa sobre a friabilidade dos

mesmos, o que pode ser inerente à alta força de compressão (8000 N) empregada no processo, ou seja, de modo geral a friabilidade dos comprimidos foi tão baixa (tabela 4) que não foi possível verificar influência dos fatores analisados. Um modelo quadrático validado, com coeficientes sem significância estatística, também foi observado por WEHRLE e colaboradores (1995) onde os autores, buscando um modelo estatístico para explicar o tamanho médio particular de nanopartículas preparadas com ácido polilático e acetona, encontraram uma equação para representação do fenômeno sem significância estatísticas dos fatores estudados.

O tempo de desintegração dos comprimidos foi melhor descrito pelo modelo quadrático,  $TD = 16.52 - 1.38 \text{ EST} - 2.30 \text{ CCS} + 0.07 \text{ EST} \times \text{CCS} + 0.49 \text{ EST}^2 + 0.15 \text{ CCS}^2$ . A análise estatística dos resultados demonstrou um coeficiente de correlação ( $r^2 = 0.8673$ ) significativo ( $p = 0.055$ ), onde cerca de 87 % da variância experimental pode ser descrita pela equação proposta. Apesar do modelo apresentar falta de ajuste ( $p < 0.01$ ), o que impossibilita a validação de acordo com os parâmetros preconizados na literatura (WHERLE e col., 1995), e demonstrar que, neste caso, o ensaio de tempo desintegração apresenta uma variação intrínseca importante, a análise dos resíduos obtidos com o modelo, permitiu concluir que a equação descreveu satisfatoriamente os dados experimentais (MONTGOMERY, 1992).

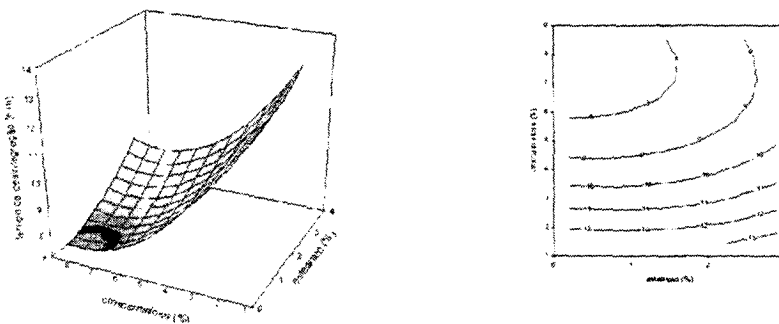


Figura 2: superfície de reposta e gráfico de contorno para o tempo de desintegração (TD) dos comprimidos

O gráfico de superfície de resposta (figura 2) demonstra que a proporção de croscarmelose sódica foi o fator mais influente no tempo de desintegração, de modo que o aumento da proporção de croscarmelose causa uma diminuição da resposta estudada. A variação da proporção de estearato de magnésio, praticamente, não altera o tempo de desintegração dos comprimidos. Esses resultados foram ratificados pelo teste t de Student, o qual confirma que somente o coeficiente linear e quadrático da CCS apresentou significância estatística com  $p = 0.037$  e  $p = 0.039$ , respectivamente. A curvatura no gráfico reflete a presença significativa do termo quadrático da equação.

O estudo da influência da força de compressão sobre as características mecânicas dos comprimidos foi realizado com a finalidade de escolher a melhor força de compressão para a produção dos comprimidos. Além da força de compressão, a proporção de croscarmelose sódica (CCS) foi eleita como variável independente a participar do estudo devido ao seu grau de importância para o tempo de desintegração dos comprimidos. Os níveis de CCS variaram de 2.5 a 7.5 %, uma vez que o gráfico de contorno obtido a partir do DCC (figura 2), sugere que concentrações acima de 6 % possam causar uma diminuição, embora discreta, no tempo de desintegração dos comprimidos. As propriedades mecânicas dos comprimidos obtidos no experimento  $3^2$  estão descritas na tabela 5.

Tabela 5: características dos comprimidos obtidas seguindo desenho fatorial  $3^2$

Experimento (CCS + F)	REC (MPa) $X \pm s$	FRB (%) $X \pm s$	TD (min) $X \pm s$
1 (2.5 + 4000)	0.85 ± 0.04	0.47 ± 0.00	6.59 ± 0.62
2 (5.0 + 4000)	0.71 ± 0.05	0.52 ± 0.07	6.19 ± 0.60
3 (7.5 + 4000)	0.64 ± 0.06	0.45 ± 0.02	5.80 ± 0.39
4 (2.5 + 6000)	1.43 ± 0.09	0.26 ± 0.05	8.56 ± 0.39
5 (5.0 + 6000)	1.53 ± 0.09	0.27 ± 0.04	7.22 ± 0.15
6 (7.5 + 6000)	1.50 ± 0.12	0.27 ± 0.00	6.75 ± 0.04
7 (2.5 + 8000)	2.58 ± 0.08	0.16 ± 0.05	10.43 ± 0.14
8 (5.0 + 8000)	2.54 ± 0.10	0.16 ± 0.05	8.27 ± 0.08
9 (7.5 + 8000)	2.53 ± 0.18	0.20 ± 0.04	7.32 ± 0.04

REC = resistência corrigida, FRB = friabilidade, TD = tempo de desintegração



As respostas estudadas foram ajustadas através de um modelo matemático de segunda ordem de acordo com a equação 2:

$$Y = \beta_0 - \beta_1 \cdot CCS + \beta_2 \cdot F + \beta_{12} \cdot CCS \cdot F + \beta_{11} \cdot CCS^2 + \beta_{22} \cdot F^2 \quad (2)$$

onde  $y$  = resposta estudada,  $\beta_0, \dots, \beta_{22}$  = coeficientes, CCS = proporção de croscarmelose sódica,  $F$  = força de compressão

Os dados experimentais de REC dos comprimidos foram ajustados através do modelo quadrático ( $REC = 0.39 - 0.04 CCS - 3.6 \times 10^{-5} F + 7.8 \times 10^{-9} CCS \cdot F - 0.001 CCS^2 + 3.75 \times 10^{-8} F^2$ ), o qual apresentou coeficiente de correlação múltiplo bastante significativo ( $p = 6.2 \times 10^{-2}$ ), cerca de 99,7 % da variação experimental pode ser explicada pelo modelo proposto ( $r^2 = 0.9967$ ). O teste  $t$  de Student para verificação da significância dos coeficientes mostrou que apenas a coeficiente quadrático da força de compressão ( $F^2$ ) apresentou significância estatística ( $p = 0.03$ ). A significância do coeficiente é refletida nos gráficos de superfície de respostas e contornos (figura 3), onde pode ser constatado que a força de compressão foi o fator a apresentar maior influência sobre a REC dos comprimidos, a leve curvatura no gráfico demonstra a presença do componente quadrático.

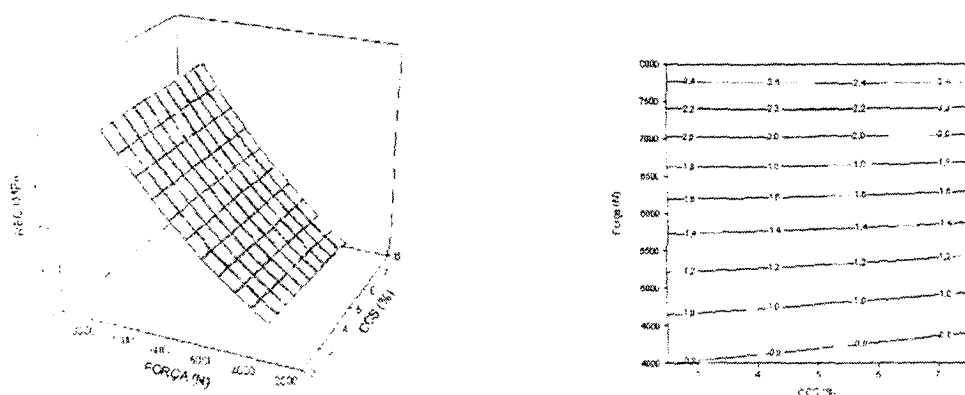


Figura 3: superfície de respostas e gráfico de contornos para REC dos comprimidos

A friabilidade dos comprimidos foi explicada por uma equação quadrática ( $FRB = 1.29 + 0.009 CCS - 0.0003 F + 2.5 \times 10^{-6} CCS \times F - 0.002 CCS^2 + 1.52 \times 10^{-8} F^2$ ) que apresentou coeficiente de correlação múltipla ( $r^2 = 0.9865$ ) significativo ( $p = 0.005$ ). O modelo matemático foi validado concluindo-se que a variação observada entre os valores experimentais e os valores estimados são decorrentes de erros aleatórios. O teste t de Student identificou os coeficientes linear e quadrático da força de compressão como significativos nos modelo, com valores de  $p = 0.003$  e  $p = 0.016$ , respectivamente. No gráfico de superfície de respostas (figura 4) foi possível visualizar a grande influência da força de compressão sobre a friabilidade dos comprimidos.

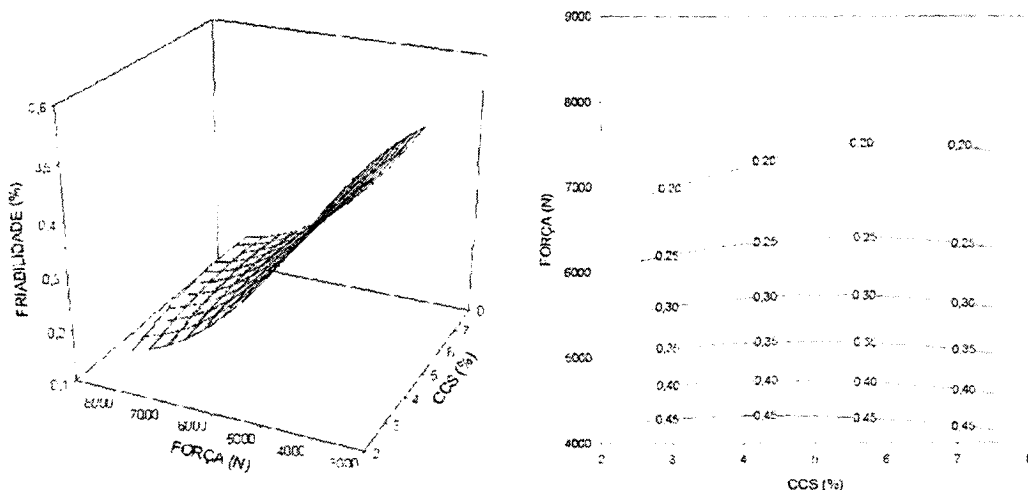


Figura 4: superfície de respostas e gráfico de contornos da friabilidade dos comprimidos

O modelo quadrático que descreveu o tempo de desintegração ( $TD = 2.69 - 0.25 CCS + 0.001 F - 1.2 \times 10^{-4} CCS \times F + 0.06 CCS^2 - 1.9 \times 10^{-8} F^2$ ) mostrou coeficiente de correlação múltipla ( $r^2 = 0.9915$ ) significativo ( $p = 0.0026$ ), sendo portanto validado e capaz de explicar cerca de 99 % da variância experimental. O teste t de Student mostrou que os coeficientes linear e quadrático da força de compressão, assim como o coeficiente da interação entre força e nível de croscarmelose sódica

foram significativos para a resposta estudada, apresentado  $p = 0.023$ ,  $p = 0.060$  e  $p = 0.002$ , respectivamente.

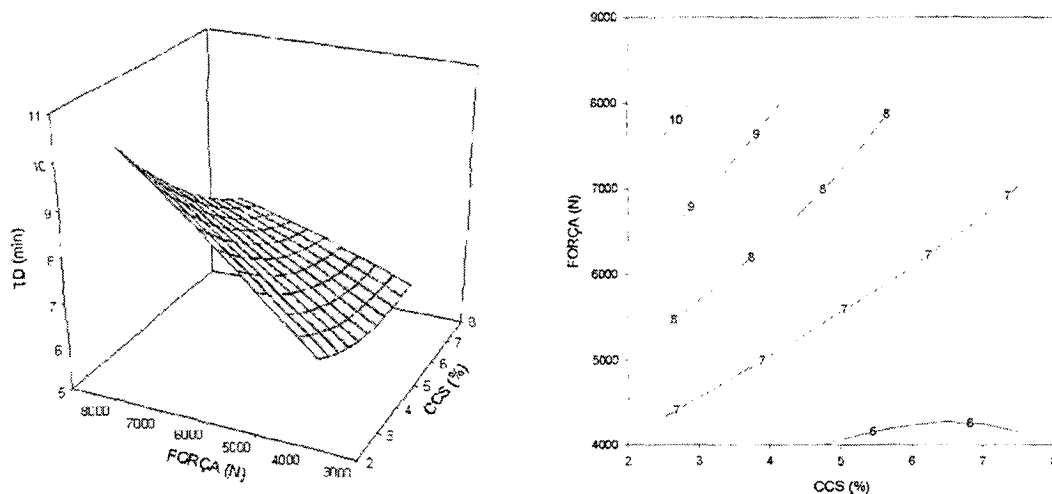


Figura 5: superfície de respostas e gráfico de contornos para o tempo de desintegração dos comprimidos.

Os gráficos de superfície de resposta e de contorno (figura 5) demonstram que, tecnologicamente, a força de compressão foi o fator de maior influência sobre o tempo de desintegração dos comprimidos. Quando a força de compressão é baixa, praticamente não há influência do nível de croscarmelose sódica no tempo de desintegração, no entanto, quando a força aplicada é alta percebe-se a importância do desintegrante, uma vez que há grande variação do tempo de desintegração de acordo com quantidade de CCS presente nos comprimidos.

No gráfico de contornos (figura 5) pode ser visualizado com maior facilidade que comprimidos produzidos com elevada força de compressão exigem uma maior proporção de croscarmelose sódica a fim de se obter tempo de desintegração inferior a 10 minutos. Esses resultados ratificam os dados encontrados no DCC, onde comprimidos elaborados com elevada força de compressão apresentaram

tempo de desintegração dependente da proporção de CCS presente na formulação. Geralmente a força de compressão é inversamente proporcional a porosidade dos comprimidos, assim os comprimidos elaborados com baixa força de compressão podem apresentar uma maior porosidade, devido a uma menor consolidação do pó, e assim justificaria o menor tempo de desintegração, independente da proporção de croscarmelose presente na formulação (CAMELA e col., 1990).

Através dos modelos matemáticos propostos no desenho composto central (DCC) foi possível prever as características dos comprimidos produzidos com força de compressão de 8000 N. Os valores previstos pelas equações (tabela 6) foram muito próximos dos valores experimentais (tabela 5), o que demonstra a viabilidade da utilização desses modelos matemáticos para a previsão das características dos comprimidos produzidos.

Tabela 6: resultados da resistência corrigida (REC), friabilidade (FRB) e tempo de desintegração (TD) previstos através de equações matemáticas para comprimidos obtidos com força de compressão de 8000 N

Experimento	CCS (% m/m)	REC (MPa) ( $\Delta^*$ )	Friabilidade (%) ( $\Delta^*$ )	TD (min) ( $\Delta^*$ )
7	2.5	2.66 (-0.08)	0.10 (+0.06)	11.14 (-0.71)
8	5.0	2.63 (-0.09)	0.14 (+0.02)	8.51 (-0.24)
9	7.5	2.51 (+0.02)	0.15 (+0.05)	7.47 (-0.15)

$\Delta^*$  = diferença entre o valor experimental (tabela 5) e o calculado pela equação (tabela 6)

Os modelos matemáticos obtidos no experimento fatorial  $3^2$  foram utilizados para prever a força de compressão e a proporção de croscarmelose sódica necessária para obter comprimidos com friabilidade e tempo de desintegração abaixo de 0.25 % e 8 minutos respectivamente. Observando os gráficos de contornos (figuras 4 e 5) constata-se que uma força de compressão em torno de 6500 N em conjunto com uma concentração de 5 % croscarmelose sódica seriam favoráveis às condições desejadas.

Na tabela 7 estão descritos os resultados previstos e experimentais para os comprimidos elaborados a partir das equações matemáticas obtidas no fatorial  $3^2$ . Como pode ser observado os valores previstos foram muito próximos dos valores experimentais, comprovando assim a eficiência dos modelos.

Tabela 7: características dos comprimidos otimizados

Ensaio	Valor previsto	Valor experimental $X \pm s$	$\Delta^*$
Resistência corrigida (MPa)	1.80	$1.73 \pm 0.10$	-0.07
Friabilidade (%)	0.23	0.13	-0.10
Tempo de desintegração (min)	7.80	$8.00 \pm 0.32$	+0.2

$\Delta^*$  = diferença entre o valor experimental (tabela 5) e o calculado pela equação (tabela 6)

A figura 6 demonstra o grau de absorção de água dos produtos quando armazenados em ambiente com umidade relativa de 69 %. O PSA é um produto bastante higroscópico, chegando a absorver cerca de 8 % de umidade em apenas dois dias de ensaio, estabilizando-se a partir do sexto dia com cerca de 10 % de umidade residual. A granulação do PSA causa uma retardação na velocidade de sorção de água do produto, uma vez que até o terceiro dia de ensaio há uma proteção de cerca de 30 %. Com relação aos comprimidos, verifica-se que este foi, consideravelmente, menos higroscópico que o PSA e o próprio granulado, absorvendo, no máximo, 7 % de umidade. A menor tendência dos comprimidos em absorver umidade pode ser explicada por um conjunto de fatores, tais como o menor percentual de PSA na formulação (71,43 %), a presença dos adjuvantes e a própria compactação podem servir como uma espécie de barreira contra a umidade, além disso a menor área de superfície do granulado e do comprimido contribuem para a redução da higroscopicidade desses produtos (WELLS, 1988)

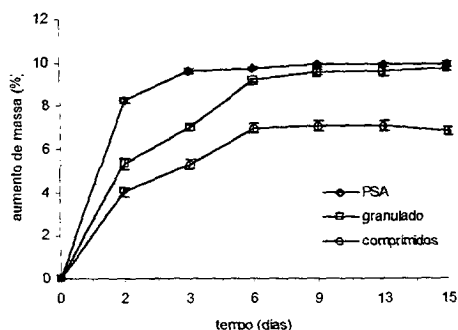


Figura 6: sorção de água pelo PSA, granulado e comprimido otimizado em ambiente com temperatura de 25 °C e 69 % de umidade relativa

As características mecânicas dos comprimidos antes e após o ensaio da exposição a umidade e temperatura ambiental controlada estão descritas na tabela 8. Como pode ser observado, o armazenamento em ambiente com umidade relativa de 69 % causou uma alteração nas características mecânicas dos comprimidos, fato este, provavelmente devido à umidade absorvida pelos comprimidos. No entanto, embora a resistência dos comprimidos tenha diminuído e aumentado sua friabilidade, as características ainda permaneceram dentro dos limites permitidos pela farmacopéia (USP 25).

Tabela 8: características mecânicas dos comprimidos antes e após armazenamento em ambiente com temperatura de 25 °C e umidade relativa de 69 %

ensaio	Condições iniciais $X \pm s$	UR = 69 % $X \pm s$	$\Delta^*$
Resistência corrigida (MPa)	$1.73 \pm 0.10$	$0.88 \pm 0.09$	-0.85
Friabilidade (%)	0.13	0.41	+0.28
Tempo de desintegração (min)	$8.00 \pm 0.32$	$9.79 \pm 0.48$	-1.79

$\Delta^*$  = diferença entre valores obtidos em condições iniciais e após armazenamento em UR = 69 %

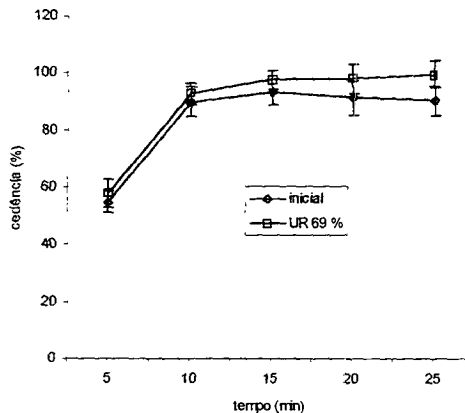


Figura 7: cedência dos comprimidos otimizados antes e após ensaio de estabilidade

Embora o armazenamento dos comprimidos em ambiente com UR de 69 % tenha causado um aumento no tempo de desintegração dos mesmos, tal alteração parece não ter interferido na cedência do PSA dos comprimidos (figura 7), uma vez que não há diferença estatística significativa ( $\alpha < 0.05$ ) entre ambos perfis de dissolução.

Como pode ser observado na figura 7, os comprimidos obtidos a partir de granulados de PSA, apresentaram rápida dissolução, fato este previamente esperado considerando a alta solubilidade do PSA em meio aquoso.

#### 4. CONCLUSÃO

De um modo geral, os resultados demonstraram que as características mecânicas dos comprimidos sofreram forte influência dos fatores estudados, ou seja força de compressão e adjuvantes farmacêuticos. Através dos experimentos fatoriais foi possível obter uma formulação contendo alto teor de PSA, a qual originou comprimidos com rápida desintegração e alta resistência mecânica, condições essenciais para a produção de comprimidos de rápida liberação. Os experimentos fatoriais embora tenham demonstrado a importância do nível de estearato de magnésio, principalmente, na resistência mecânica dos mesmos, evidenciou que, em termos de desintegração, a proporção de croscarmelose associada à força de compressão são os fatores mais importantes, salientando, inclusive, que comprimidos produzidos com elevadas forças de compressão exigem uma maior proporção de croscarmelose sódica a fim de conseguir uma rápida desintegração. Por fim, através dos modelos matemáticos propostos foi possível demonstrar a viabilidade de utilização dos mesmos para eleição dos níveis de adjuvantes e força de compressão a fim de obter uma resposta tecnológica desejada.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

CALIXTO JB, SANTOS ARS., CECHINEL FILHO V and YUNES RA. A review of the plants of Genus *Phyllanthus*: Their Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Potencial. **Medical Research Review**, v. 18, p. 225-258, 1998.

CARAMELLA, C.; FERRARI, F.; BOUNFERONI, M.C.; ROUCHI, M. Disintegrants in Solid Dosage Forms. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 16, n. 17, p. 2561-2577, 1990.

CASADEIBAG, J.L. **Realisation d'extraits secs nebulisés. Optimisation de formes galéniques de origine végétale a activité diurétique**. Montpellier: Faculté de Pharmacie, Université de Montpellier, 1987. Tese de Doutorado.

COCHRAN, W.G., COX, G.M. **Experimental designs**. 2nd ed. John Wiley, New York., 1969.

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

DE SOUZA, T.P.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; DALLA COSTA, T.C.T.; PETROVICK, P.R. Influence of adjuvants on the dissolution profile of tablets containing high doses of spray-dried extract of *Maytenus ilicifolia*. **Pharmazie**, v.56, n.9, p. 730-733, 2001

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

LINDEN, R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V. L. Response Surface Analysis Applied to the Preparation of Tablets Containing a High Concentration of Vegetable Spray-Dried Extract. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 441-446, 2000.

MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; VILA JATO, J.L. Diseño de un sistema de registro de presión en máquinas de comprimir excéntrica. **Ciencia Industrial Farmacéutica**, v.4, p. 207-211, 1985.

MONTGOMERY, C.D. **Diseño y análisis de experimentos**. 2. ed. México: Iberoamérica, 1992, p. 589

NYQVIST H. Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. **International Journal Pharmaceutics Technology Production and Manufacturing**, v. 4, n. 2, p. 47-78, 1983.

PALMA, S.; LUJÁN, C.; LLABOT, J.M.; BARBOSA, G.; MANZO, R.H.; ALLEMANDI, D.A. Design of *Peumus boldus* tablets by direct compression using a novel dry plant extract. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 207, n. 1-2, p. 191-198, 2002.

PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; LINCK, V.B. Compression Characteristics of Spray Dried Extracts from Medicinal Plants. In: AAPS ANNUAL MEETING, 10, 1995, Miami, **Pharmaceutical Research**, v. 12, suppl., p. S-167, 1995. PT 6123.



RENOUX, R.; DEMAZIERES, J.A.; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally Designed Optimization of Direct Compression Tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, n. 2, p. 103-109, 1996.

SHEKESPEARE, P.J.; ROBB, R.T.; MOORE, R.D.; BOYCE, B.M. Effects of Lubricant level, Method of Mixing on a Controlled-Release Matrix Tablet Containing Hydroxypropylmethylcellulose. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 21, n. 19, 2151-2165, 1995.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

SOARES, L.A.L.; SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Efeito da força e velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, 147-154, 2003.

SUMMERS, M.P.; ENEVER, R.P. y CARLESS, J.E. Influence of Crystals form on Tensile Strength of Compacts of Pharmaceutical Materials. **Journal Pharmaceutical Science**, v. 66, p.1172-1175, 1977.

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

WHERLE, P.; MAGENHEIM, B.; BENITA, S. The Influence of Process Parameters on PLA Nanoparticle Size Distribution, Evaluated by Means of Factorial Design. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, n. 1, p. 19-26, 1995.

WILLIAMS, R.O.; MCGINITY, W.J. Compaction Properties of Microcrystalline Cellulose and Sodium Sulfathiazole in Combination with Talc or Magnesium Stearate. **Journal Pharmaceutical of Sciences**. V. 78, n. 12, 1025-21035, 1989.

## 6. AGRADECIMENTOS

*Agradecimentos ao suporte financeiro fornecido pela CAPES e CNPq*

**MANUSCRITO: Avaliação de Comprimidos Revestidos por Película  
Contendo Alta Concentração de Extrato Seco Vegetal de  
*Phyllanthus niruri***

---

Artigo em preparação para ser submetido a *Acta Farmacéutica Bonaerense*

## 1. INTRODUÇÃO

Foi observada, no capítulo 5, a viabilidade de obtenção de comprimidos com boas características tecnológicas, a partir de produto seco por aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri* na forma granulada. No entanto, a higroscopia dos comprimidos, fato inerente ao próprio PSA, constitui uma característica marcante que pode comprometer a estabilidade do produto.

O estudo de compressão realizado com granulados de PSA contendo Eudragit® E como agente aglutinante (DE SOUZA e col., 2003)<sup>\*</sup>, revelou que apesar da presença deste adjuvante no granulado reduzir a higroscopicidade dos comprimidos formados, causa, também, uma elevação, considerável, no tempo de dissolução dos comprimidos, o que do ponto de vista tecnológico constitui um aspecto negativo.

Considerado as propriedades do Eudragit® E como filmógeno, capaz de proteger a forma farmacêutica das variações ambientais, sendo ainda solúvel em pH gástrico, a utilização deste polímero para o revestimento de comprimidos, contendo alto teor de *P. niruri*, pode ser uma alternativa viável para proteção dos mesmos contra umidade atmosférica (PÉREZ, 1995; PETEREIT e WEISBROD, 1999).

Assim, o objetivo desse capítulo foi, através de um estudo preliminar, avaliar a possibilidade do revestimento pelicular de comprimidos contendo *P. niruri*, utilizando Eudragit E como polímero de revestimento, bem como o comportamento tecnológico após armazenamento em ambiente com temperatura e umidade relativa controlada.

---

<sup>\*</sup> DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P.R. Eudragit E as excipient for the production of granulates and tablets containing a high load of a spray dried *Phyllanthus niruri* L. extract – artigo enviado para publicação no *International Journal of Pharmaceutics*, 2003

**MANUSCRITO: Avaliação de Comprimidos Revestidos por Película  
Contendo Alta Concentração de Extrato Seco Vegetal de  
*Phyllanthus niruri***

---

Artigo em preparação para ser submetido a *Acta Farmacéutica Bonaerense*

AVALIAÇÃO DE COMPRIMIDOS REVESTIDOS POR PELÍCULA CONTENDO ALTA CONCENTRAÇÃO DE EXTRATO SECO VEGETAL DE *PHYLLANTHUS NIRURI* L.

DE SOUZA, T.P.; SPANIOL, B.; PETROVICK, P.R.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil.

RESUMO:

O propósito deste estudo foi verificar a viabilidade do revestimento pelicular de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri*. Os comprimidos para o revestimento foram elaborados pela compressão direta de uma formulação contendo 70 % de PSA, croscarmelose sódica (5 %), estearato de magnésio (1%) e celulose microcristalina (24 %). Utilizou-se Eudragit E como polímero de revestimento. Os comprimidos com e sem revestimento foram armazenados por 15 dias em ambiente com umidade relativa de 65 % ou 75 % a fim de verificar o grau de sorção de umidade e alterações das características mecânicas. O processo de revestimento causou um aumento da dureza e do tempo de desintegração dos comprimidos e uma cedência mais lenta do PSA. Após armazenamento em ambiente com umidade relativa de 65 % ou 75 % foi constatado que os comprimidos sem e com revestimento apresentaram teores de umidade muito próximos, no entanto, significativamente menor que o produto seco por aspersão como pó, além do que, a velocidade de sorção de água nos comprimidos revestidos foi, consideravelmente mais lenta que nos sem revestimento. Com relação às características mecânicas, a presença de umidade, durante o armazenamento, apesar de ocasionar redução da dureza em ambos comprimidos, não provocou mudança no perfil de dissolução, bem como alteração no conteúdo de polifenóis.

Palavras Chaves: Revestimento, extrato seco vegetal, Eudragit E 100, *Phyllanthus niruri*

## 1. INTRODUÇÃO

*Phyllanthus niruri* é uma espécie vegetal largamente utilizada pela medicina tradicional com comprovadas atividades farmacológicas (CALIXTO e col., 1998). A principal indicação terapêutica é contra litíase renal, sendo os polifenóis, presentes na sua constituição química, possíveis responsáveis por essa atividade (CAMPOS e SCHOR, 1999). O produto seco por aspersão (PSA), elaborado a partir do extrato aquoso do vegetal, foi desenvolvido com a finalidade de aumentar a estabilidade dos constituintes químicos presentes no extrato (SOARES, 1997). No entanto, este, semelhante a produtos secos por aspersão de outras espécies vegetais, apresenta elevada higroscopicidade, dificultando a elaboração de formas farmacêuticas derivadas (RENOUX e col., 1996; DE SOUZA e col., 2000; LINDEN e col., 2000).

As resinas acrílicas, Eudragit®, são extensivamente utilizadas na produção de medicamentos. Dentre suas principais aplicações destaca-se como filmógeno para mascarar o sabor de formas farmacêuticas e conferir proteção contra o meio ambiente, além de atuar no controle da liberação de fármacos. Entre as vantagens de utilização desses polímeros salienta-se a elevada estabilidade e a baixa reatividade com outras substâncias (PETEREIT e WEISBROD, 1999).

A utilização de Eudragit E como agente aglutinante para elaboração de granulados de produto seco por aspersão de extrato vegetal mostrou resultados promissores no sentido de aumentar a estabilidade do mesmo através da redução da higroscopicidade (DÍAZ e col., 1996; DE SOUZA e col., 2003<sup>1</sup>). No entanto, DE SOUZA e col. (2003)<sup>1</sup> observaram que comprimidos elaborados a partir de granulados obtidos com Eudragit E, embora apresentassem maior estabilidade frente a ambientes com alta umidade, mostraram elevado tempo de desintegração e lenta cedência do PSA.

Sendo assim, o objetivo do trabalho foi verificar a viabilidade da utilização do Eudragit E para obtenção de comprimidos revestidos por película, assim como

---

<sup>1</sup> DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R. GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P.R. Eudragit E as excipient for the production of granulates and tablets containing a high load of a spray dried *Phyllanthus niruri* L. extract – artigo enviado para publicação no *International Journal of Pharmaceutics*

analisar o grau de proteção contra umidade e a influência nas características mecânicas dos comprimidos obtidos.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 MATÉRIAS-PRIMAS

Produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* (PSA) obtido seguindo metodologia descrita por SOARES (1997) utilizando aparelho de secagem por aspersão Niro Atomizer Production Minor. Os Adjuvantes farmacêuticos celulose microcristalina (Avicel® PH 101 – FMC), croscarmelose sódica (Ac-Di-Sol® - FMC), estearado de magnésio e talco (fornecidos pela FEPPS/SS/RS), Eudragit E 100 (Rohm), poligol 6000 (Delaware), dióxido de titânio (Merck), isopropanol (Quimex) e acetona (Synth) foram usados como recebidos.

### 2.2 OBTENÇÃO DOS COMPRIMIDOS

#### *Obtenção do complexo farmacêutico (CF)*

O complexo farmacêutico, sob a forma de pó, foi obtido misturando-se o produto seco por aspersão (70 %), croscarmelose sódica (5 %) e celulose microcristalina (24 %), após prévia tamisação (450  $\mu$ m), a 30 rotações por minuto, em um misturador tipo V acoplado a motor multiuso Erweka (AR 400) durante 20 minutos. Em seguida foi adicionado à mistura obtida o estearato de magnésio, previamente tamisado (350  $\mu$ m), e misturado por 5 minutos.

#### *Produção dos comprimidos*

Os comprimidos foram produzidos em máquina alternativa (Korsch EK-0) dotada de punções circulares biconvexas de 12 mm de diâmetro, através da pesagem individual e compressão direta de 600 mg de complexo farmacêutico.

### 2.3 REVESTIMENTO

O revestimento dos comprimidos foi realizado em equipamento de bancada (figura 1) dotado de turbina de drageamento (1), sistema de aspersão de dupla ação (2) com acionamento manual e alimentação realizada com auxílio de bomba

peristáltica (Ismatec – tipo IPS 8) e insuflador de ar quente (3) dotado de controle de temperatura do ar.

#### *Preparação da suspensão de revestimento*

A formulação de revestimento (tabela 1) foi preparada através da pesagem de todos os componentes, dissolução do Eudragit E 100 em acetona e isopropanol, seguida da incorporação do polígonol 6000, previamente dissolvido no etanol, e posterior adição dos demais componentes da formulação. Após incorporação de todos os componentes, a suspensão foi misturada com auxílio de agitador magnético por cerca de 1 hora.

Tabela 1: formulação da suspensão de revestimento

Componentes	Quantidade (g)
Eudragit E 100	5.0
Polígonol 6000	0.5
Talco	1.5
Dióxido de titânio	1.5
Isopropanol	45.25
Acetona	45.25
Etanol	1.00
Total	100

#### *Equipamento*

O equipamento foi desenvolvido baseado no aparelho construído por NIEMANN (1991). Detalhes de construção estão descritos abaixo (figura 1):

(1) Turbina de revestimento: construída em alumínio de 2 cm de espessura em peça única com formato tronco – cônica, de interior polido, apresentando as seguintes dimensões: volume de 275 ml, altura de 70 mm, diâmetro externo com 88 mm de base e 55 mm de abertura.

(2) Aspersor duplo: pulverizador com dupla ação Professional Air Brush (CA –3003).

(3) Insuflador de ar - consiste de um equipamento Inema (tipo 14 1/8 HP) modificado através do acoplamento de termostato com controle de temperatura do ar.



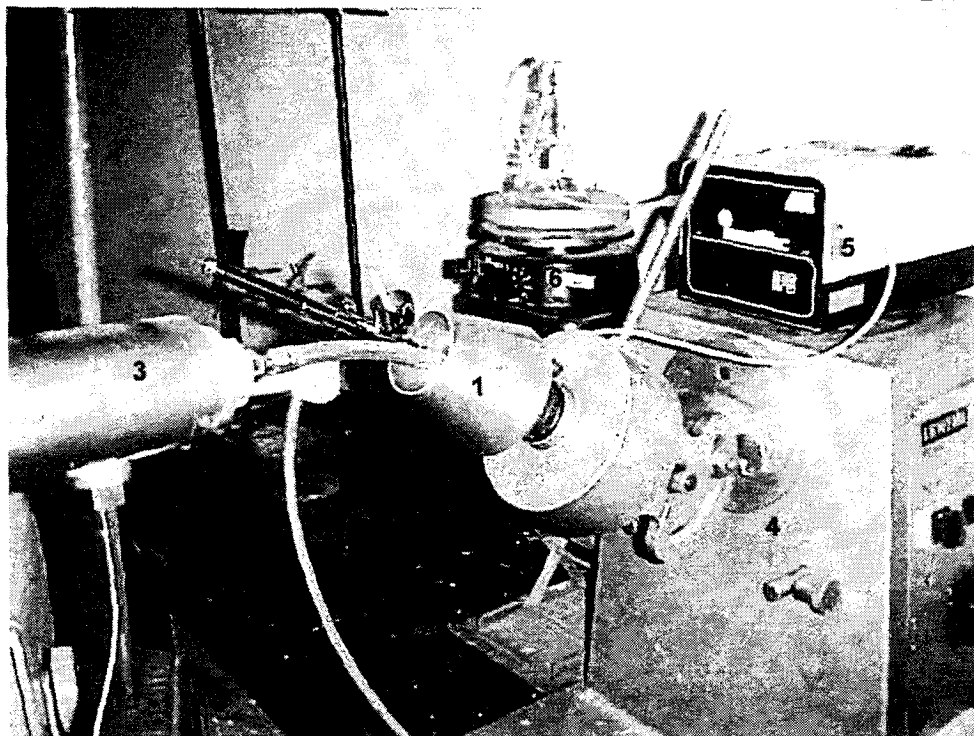


Figura 1: equipamento de bancada para revestimento de comprimido. 1 – turbina de revestimento, 2 – aspersor duplo, 3 – insuflador de ar quente; 4 – motor multiuso; 5 – bomba peristáltica; 6 – agitador magnético

#### *Condições de revestimento*

As condições empregadas no revestimento estão descritas na tabela 2. Os núcleos comprimidos foram pré aquecidos à temperatura de 40 °C na própria turbina de drageamento por um período de 15 minutos, em seguida, a suspensão de revestimento foi aplicada, a fim de se obter um filme contendo 1,7 mg de suspensão por cm<sup>2</sup> de núcleo, equivalente a 1 mg de Eudragit E por cm<sup>2</sup> (BAUER e col., 1998). A suspensão de revestimento foi mantida sob agitação durante toda a operação. Ao final, os comprimidos sofreram secagem adicional em estufa a 40 °C por um período de 30 minutos. A operação foi realizada em três lotes de 30 comprimidos, reunidos de forma a compor uma única amostra para caracterização.

Tabela 2: condições de operação de revestimento empregadas na obtenção de comprimidos revestidos por película de *Phyllanthus niruri*

Condições de operação	
Velocidade de rotação da turbina	125 rpm
Ângulo de inclinação da turbina	45 °
Temperatura do ar de secagem	40 ° C ± 2 °C
Pressão de ar	1 bar
Fluxo de aspersão	0,7 ml/min

#### 2.4 CARACTERIZAÇÃO DOS COMPRIMIDOS COM E SEM REVESTIMENTO

##### *Determinação da aparência (USP 25)*

A aparência dos comprimidos foi avaliada visualmente, a olho nu, considerando-se a homogeneidade de coloração e ausência de defeitos na superfície. A altura e o diâmetro foram determinados em vinte comprimidos, escolhidos aleatoriamente, através de medições feitas com um paquímetro digital (Mitutoyo, serie 243), no mínimo, 24 h após obtenção dos mesmos.

##### *Determinação do peso médio (F. Bras. IV)*

Pesaram-se, individual e aleatoriamente, vinte comprimidos, em balança analítica e determinou-se a média dos mesmos.

##### *Determinação da dureza (F. Bras. IV)*

A dureza foi determinada através da resistência ao esmagamento radial, utilizando-se durômetro (Schleuniger - 2E). O ensaio foi realizado em seis comprimidos de cada lote.

##### *Determinação da friabilidade (F. Bras. IV)*

A friabilidade foi determinada empregando-se 20 comprimidos, através do cálculo do percentual de perda de material por queda e erosão, utilizando-se friabilômetro tipo Roche numa velocidade de vinte rotações por minuto durante 5 minutos.

### *Determinação do tempo de desintegração (USP 25)*

O tempo de desintegração foi determinado em HCl 0,1 N a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os resultados expressam a média de seis determinações.

### *Ensaio de cedência (USP 25)*

A velocidade de cedência do PSA foi determinada em equipamento Pharma Test (PTW SIII) de acordo com especificações da USP 25 (método 2, velocidade de agitação de 100 rpm). O meio de dissolução foi o suco gástrico artificial sem enzimas (USP 25). A determinação da concentração de PSA foi realizada por medição direta em espectrofotômetro em 275 nm, utilizando como branco suco gástrico artificial (COUTO, 2000). A semelhança entre as curvas de dissolução foram avaliadas através de cálculo do fator de similaridade – F2, onde valores acima de 50 indicam perfis de liberação semelhante (PILLAY e FASSHI, 1999).

### *Doseamento de polifenóis*

O doseamento de polifenóis presentes nos comprimidos foi determinada seguindo metodologia descrita por DE SOUZA e col. (2002). Cada comprimido foi pulverizado e uma quantidade de pó equivalente a 73,8 mg de PSA foi dissolvido em água para 100,0 ml, sob agitação, por 2 horas. Alíquotas de 3,0 ml dessa solução foram diluídas com acetonitrila:água (20:80 v/v) para 25,0 ml, resultando uma concentração de 88,56  $\mu\text{g/ml}$  de PSA.

A análise foi realizada utilizando cromatógrafo líquido acoplado a injetor automático e detector UV/VIS (Shimadzu LC-10 AD, SIL-10 A, SPD-10 A). As condições cromatográficas consistiram de coluna RP-18 LiChrospher 250 x 4 mm i.d., 5- $\mu\text{m}$  diâmetro de partícula (Merck, Darmstadt, Germany) dotada de pré-coluna Shimadzu (10 mm x 4 mm i.d.) empacotada com recheio de Bondapak C18 125 Å (Waters, Milford, MA, USA). Empregou-se como fase móvel sistema gradiente utilizando ácido fosfórico 1 % (m/m) como solvente A e acetonitrila:ácido fosfórico 1 % (m/m) (50:50 (v/v)) como solvente B. O programa gradiente foi de 22 - 24 % B (7 min), 24 - 40 % B (10 min), 40 - 100 % B (8 min), 100 - 22 B % (15 min) com fluxo

de 0,6 ml.min<sup>-1</sup>. A detecção dos picos foi realizada em 275 µm (DE SOUZA e col., 2002).

## 2.5 COMPORTAMENTO FRENTE À UMIDADE

Neste ensaio avaliaram-se a sorção de água e as propriedades mecânicas de comprimidos com e sem revestimento após armazenados, por 15 dias, em ambiente com temperatura de 25 °C e umidade relativa controlada de 65 % ou 75 %. O ambiente com umidade relativa controlada foi obtido através de solução saturada, com resíduo, de nitrito de sódio e cloreto de sódio, respectivamente (NYQVIST,1983). Amostras de comprimidos com e sem revestimentos foram submetidas ao ensaio, assim como amostras de cerca de 500 mg do produto seco por aspersão (PSA). O teste foi realizado com um número de seis repetições para os comprimidos e três repetições para o PSA. A sorção de água foi estimada através da pesagem das amostras nas primeiras 24 e 48 horas, e, posteriormente, a cada 72 horas, por um período de 15 dias. Ao final do experimento os comprimidos foram avaliados quanto ao peso médio, dureza, tempo de desintegração, cedência e conteúdo de polifenóis, de acordo com as técnicas descritas anteriormente.

## 2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram avaliados através de análise de variância (ANOVA), teste de Student Newman Keuls e teste t de Student realizados com auxílio do programa estatístico SigmaStat® for Windows versão 1.0.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os núcleos foram elaborados a partir de estudos prévios realizados por DE SOUZA e col. (2003)<sup>2</sup>. A tabela 3 descreve as características mecânicas dos comprimidos preparados para o revestimento, os quais foram obtidos de modo a apresentarem alta resistência mecânica, ou seja, elevada dureza e baixa friabilidade, bem como rápido tempo de desintegração.

---

<sup>2</sup> DE SOUZA, T.P. ; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; PETROVICK, P.R. Compressional Behavior of Formulations from *Phyllanthus niruri* Spray Dried Extrct. 2003. Artigo em preparação para ser enviado para publicação no periódico **Pharmazie**

Em uma operação de revestimento, tais características são extremamente importantes, uma vez que, os comprimidos devem ter uma força suficiente para resistir ao processo de rotação da turbina de drageamento e, ao mesmo tempo, devem apresentar rápida desintegração nos fluidos digestivos para garantir uma boa biodisponibilidade (BAUER e col., 1998).

Além das características mecânicas, as dimensões dos comprimidos também são importantes para uma eficiente operação de revestimento. De modo geral, para um formato biconvexo, valores de raio de curvatura entre 0,7 e 0,75 vezes o diâmetro, bem como altura de bordo entre 0,07 e 0,12 vezes o diâmetro são ideais para a operação de revestimento (BAUER e col., 1998, LIEBERMAN e col., 2001). Os comprimidos produzidos para o estudo apresentaram raio de curvatura em torno de 8,7 mm e altura de bordo com cerca de 1,4 mm, ou seja valores dentro da faixa favorável, considerando um diâmetro de 12 mm.

Tabela 3: características dos comprimidos antes e após o revestimento

Ensaio	Antes $\bar{X} \pm s$	Após $\bar{X} \pm s$
Peso médio (mg)	596,0 $\pm$ 3,00	650,3 $\pm$ 7,99
Dureza (N)	111,4 $\pm$ 5,50	192,0 $\pm$ 11,7
Friabilidade (%)	0,08	-
Tempo de desintegração (min)	13,0 $\pm$ 0,58	16,6 $\pm$ 0,3

O aumento do peso médio causado pelo revestimento (55,4 mg) foi igual ao planejado (54,3 mg) a fim de conferir ao comprimido uma película com concentração de 1 mg/cm<sup>2</sup> de Eudragit E, considerando a superfície dos comprimidos de 32,59 cm<sup>2</sup>.

O revestimento dos comprimidos causou um aumento na dureza e no tempo de desintegração (tabela 3), o que pode ser atribuído à película de revestimento. No entanto, embora o aumento da dureza tenha sido de cerca de 41 %, o incremento no tempo de desintegração foi de apenas 3,6 minutos, encontrando-se ainda dentro do padrão farmacopéico para comprimidos de desintegração rápida (F. Bras. IV).

O perfil de dissolução do PSA dos comprimidos revestidos, quando comparado aos sem revestimento, foi considerado mais lento (figura 2). O cálculo do fator de similaridade (F2) demonstrou um valor de 39,84 o que classifica os perfis

de liberação como não similares entre si. A aplicação da película de revestimento ocasionou um significativo retardo no tempo de liberação do PSA o que pode ser inerente ao tempo necessário para completa dissolução da película, no entanto, pode ser constatado que a cedência do PSA a partir dos comprimidos revestidos continua sendo extremamente rápida, uma vez que ao final de 15 minutos há, praticamente, uma completa liberação do mesmo.

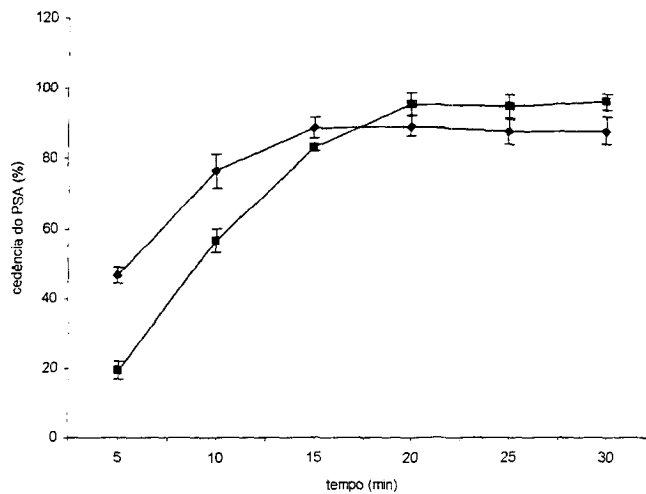


Figura 2: perfil de dissolução do PSA a partir de comprimidos sem (◆) e com (■) revestimento

O ensaio de armazenamento dos comprimidos em ambientes com atmosfera de temperatura e umidade relativa controlada (UR) foi realizado com a finalidade de verificar a eficiência da película de revestimento na proteção dos comprimidos frente às condições atmosféricas.

Na figura 3 está exposto o aumento de massa dos comprimidos e do PSA, na forma de pó, quando armazenados em ambientes com diferentes umidade relativas. Observa-se que os comprimidos, ainda que sem revestimento, apresentaram menor sortividade que o PSA, o que pode ser atribuído à presença de adjuvantes na

formulação bem como à própria compressão que podem agir como uma espécie de barreira contra a umidade (DE SOUZA e col., 2003<sup>3</sup>). Por outro lado, os comprimidos revestidos, embora tenham, ao final do experimento, sorvido, praticamente, o mesmo teor de umidade que os sem revestimento, mostraram um comportamento diferenciado.

Quando armazenados em ambiente com UR de 65 % ambos comprimidos apresentaram, ao final do experimento, uma sorção média de umidade de 4,8 %. No entanto, nos comprimidos sem revestimento a higroscopicidade estabilizou no segundo dia de experimento, enquanto que nos comprimidos revestidos a estabilização somente ocorreu a partir do oitavo dia, antes do qual a sorção de umidade foi significativamente menor e mais lenta.

No armazenamento em ambiente com UR de 75 % a sorção de umidade de ambos comprimidos foi estabilizada somente com 14 dias de experimento, período no qual os comprimidos apresentaram uma sorção média de 8,9 % e 8,5 %, sem e com revestimento, respectivamente. Observou-se que nesta atmosfera há uma maior absorção de água, fato pertinente considerando a maior umidade relativa do ambiente, no entanto parece haver uma melhor demonstração da eficiência do revestimento, uma vez que este foi capaz de proteger o núcleo proporcionando uma absorção mais lenta de umidade até praticamente o final do experimento.

O estudo da sorção de umidade dos comprimidos evidenciou que a grande vantagem do revestimento é que a película, apesar de ser permeável a umidade, apresenta uma certa proteção ao comprimido (BAUER e col., 1998) diminuindo a sensibilidade a variações de umidade atmosférica.

---

<sup>3</sup> DE SOUZA, T.P.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; PETROVICK, P.R. Otimização tecnológica de comprimidos com alto teor de produto seco por aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri* L. contidos em granulados. 2003. Artigo em preparação para ser enviado para publicação no periódico **Drug Development and Industrial Pharmacy**

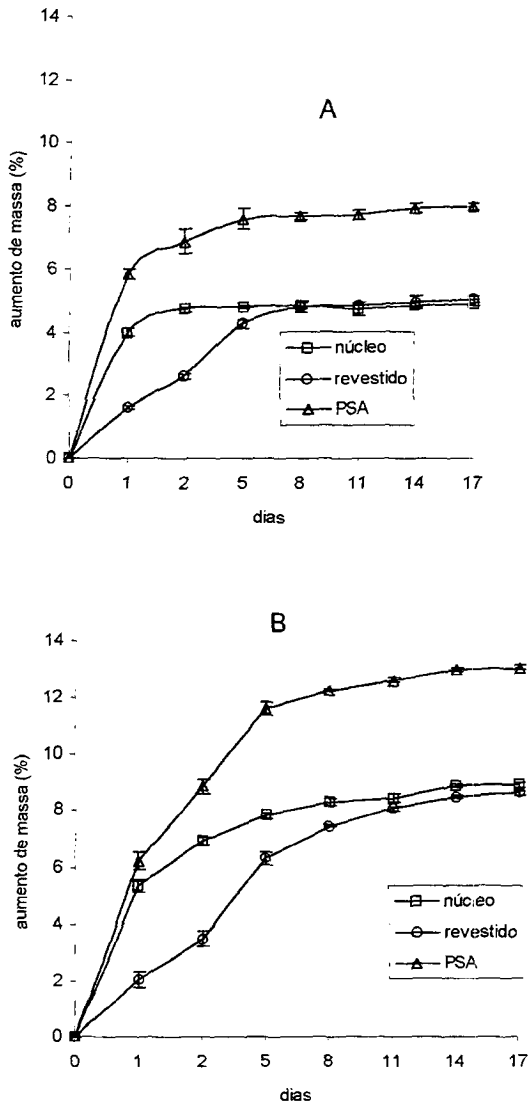


Figura 3: sorção de água dos produtos em ambiente com UR de 65 % (A) e UR de 75 % (B)

Em relação às condições iniciais, todos os comprimidos apresentaram diminuição da dureza após armazenamento, o que pode ser atribuído a sorção de



umidade (figura 4). O aumento da umidade relativa do ar faz com que os polímeros presentes na película de revestimento aumentem a liberdade intermolecular tornando-se mais frágeis, fato que pode ser refletido na diminuição da resistência mecânica do revestimento (WU e MACGINITY, 2000).

Assim pode ser verificado que, embora, em todos os casos os comprimidos revestidos mostrassem dureza superiores, o armazenamento nos ambientes com umidade relativa de 65 % ou 75 % causou significativa redução da dureza inicial. Resultados estes coincidentes com os achados de WU e MacGiNITY (2000), os quais verificaram que a exposição de pellets de teofilina revestidos com Eudragit E armazenados em ambientes com elevada umidade apresentaram redução significativa na sua resistência mecânica.

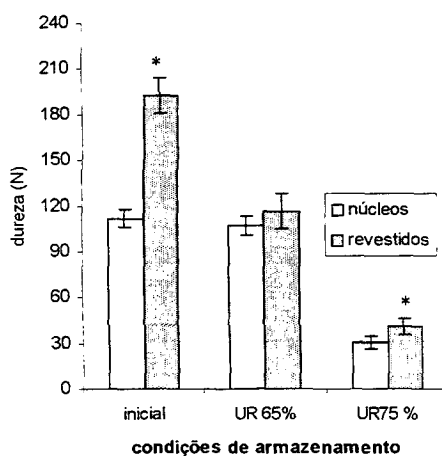


Figura 4: dureza dos comprimidos em diferentes condições de armazenamento (\* diferença significativa  $\alpha = 0.05$ )

A exposição à ambiente com elevada umidade praticamente não alterou o tempo de desintegração dos comprimidos (figura 5). Os comprimidos, com e sem revestimento, desintegraram-se rapidamente e, embora haja diferença estatística ( $\alpha$

= 0,05) entre o tempo desintegração antes e após o armazenamento, tecnologicamente, os valores ficaram muito próximos das condições iniciais.

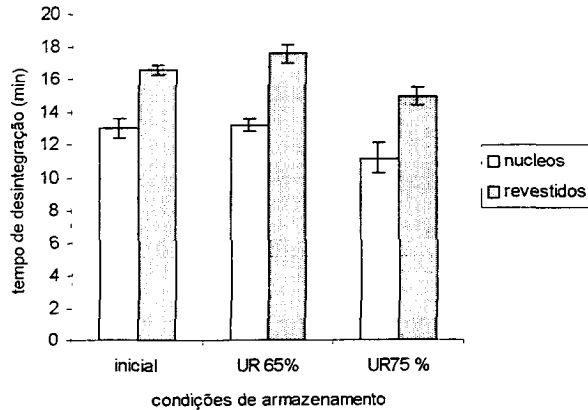


Figura 5: tempo de desintegração dos comprimidos

Na figura 6 estão descritos os perfis de liberação de PSA a partir dos comprimidos, sem e com revestimento, quando armazenamento em ambientes com diferentes umidade relativas.

Observou-se que ambos os comprimidos apresentaram cedência do PSA extremamente rápida (figura 6). Em cerca de 15 minutos já havia ocorrido liberação de praticamente todo o conteúdo de PSA. O cálculo do fator de similaridade (tabela 4) demonstrou que a umidade não alterou os perfis de liberação, pois as curvas de dissolução foram consideradas semelhantes entre si.

Tabela 4: fator de similaridade (f2) entre os comprimidos

comprimidos sem revestimento		comprimidos revestidos	
Referência – condição inicial		Referência – condição inicial	
UR 65 %	98,40	UR 65 %	75,70
UR 75 %	70,65	UR 75 %	61,07

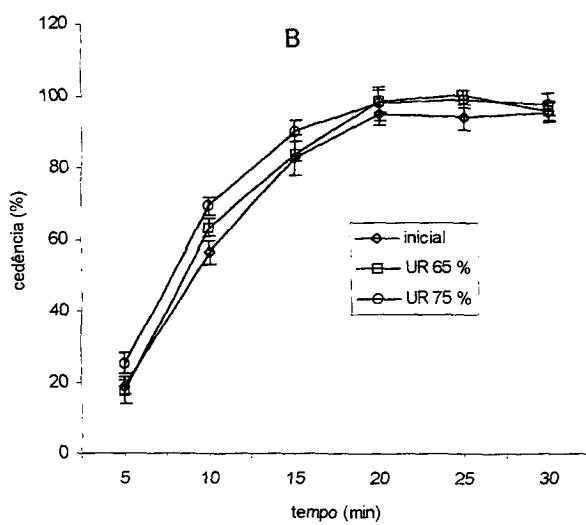
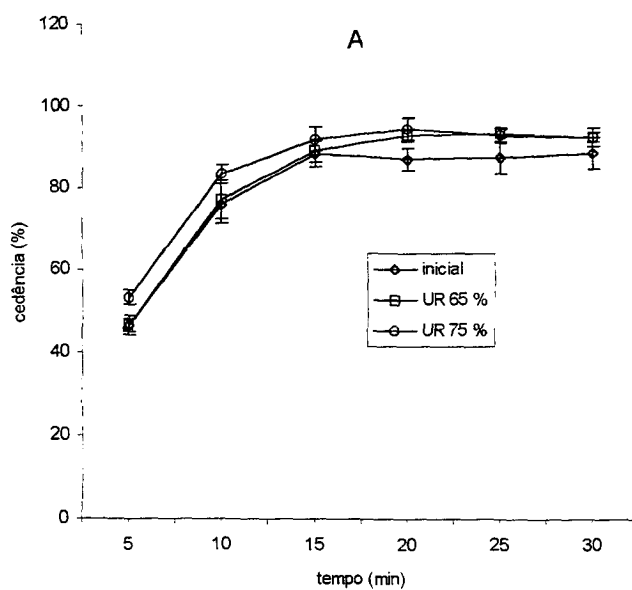


Figura 6: cedência de PSA a partir dos comprimidos sem revestimento (A) e revestidos (B)

O doseamento dos comprimidos foi realizado com a finalidade de verificar se a película de revestimento, bem como o armazenamento em ambiente com elevada umidade relativa causavam alguma alteração no perfil cromatográfico dos marcadores químicos do PSA.

Na tabela 5 estão descritos os teores de polifenóis presentes nos comprimidos sobre diferentes condições de armazenamento. Em todos os casos não foi observada nenhuma alteração nos perfis cromatográficos. Apesar da exposição frente a diferentes umidades, esta parece não ter interferido no teor de polifenóis dos mesmos, uma vez que o doseamento dos comprimidos evidenciou que as substâncias marcadoras (ácido gálico e demais derivados fenólicos) mostraram teores semelhantes aos originalmente encontrados na matéria-prima vegetal (DE SOUZA e col., 2002).

Tabela 5: doseamento dos marcadores químicos presentes no produto seco por aspersão (PSA) de *Phyllanthus niruri*

Produtos	Polifenóis mg/100mg de PSA		
	Ácido gálico X (CV%)	Pico 2 X (CV%)	Pico 3 X (CV%)
PSA	1,15 (0,03)	1,34 (1,48)	1,73 (1,27)
Núcleo	1,15 (0,16)	1,41 (0,85)	1,78 (0,62)
núcleo UR 65%	1,11 (0,25)	1,42 (0,32)	1,75 (0,49)
núcleo UR 75%	1,10 (0,49)	1,38 (0,39)	1,72 (0,27)
Revestidos	1,10 (0,46)	1,34 (0,02)	1,79 (0,01)
Revestidos UR 65%	1,11 (0,24)	1,43 (0,68)	1,75 (0,47)
Revestidos UR 75%	1,09 (0,02)	1,43 (0,60)	1,74 (0,01)

#### 4. CONCLUSÃO

O estudo demonstrou a viabilidade do revestimento pelicular de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*, uma vez que foi possível a obtenção de comprimidos revestidos com adequadas características tecnológicas e sem alteração do conteúdo de polifenóis. A película de revestimento permitiu uma sorção de umidade mais lenta, conduzindo a um melhor comportamento do produto quando armazenados em ambiente de elevada umidade relativa. Apesar da película de revestimento causar um pequeno retardo do tempo de desintegração dos comprimidos e cedência do PSA, gerando perfis de dissolução diferenciados de acordo com o fator de similaridade (F2), tecnologicamente, não é

relevante, pois de modo geral o tempo de desintegração e dissolução dos mesmos ainda são considerados rápidos. Por fim, através do doseamento dos comprimidos foi possível concluir que durante o tempo de armazenamento em ambiente com elevada umidade não houve alteração do conteúdo de polifenóis.

## 5. BIBLIOGRAFIA

BAUER, K.H.; LEHMANN, K.; OSTERWALD, H.P.; ROTHGANG, G. **Coated Pharmaceutical Dosage Forms: Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods and Raw Materials**. CRC Press: Florida, 1998.

CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S.; CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R.A. A Review of the Plants of Genus *Phyllanthus*: Their Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Potencial. **Medical Research Review**, v. 18, p. 225-258, 1998.

CAMPOS, A.H.; SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* Inhibits Calcium Oxalate Endocytosis by Renal Tubular Cells: Its Role in Urolithiasis. **Nephron**, v. 81, n. 4, p. 393-397, 1999.

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

DE SOUZA, K.C.B; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZALEZ ORTEGA, G. The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P Influence on the Technological Characteristics of Spray-dried Powders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000.

DE SOUZA, T.P; HOLZSCHUH, M.H.; LIONÇO, M.I.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Validation of a LC Method for the analysis of Phenolic Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial Parts. **Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 351-356, 2002.

DÍAZ, L.M.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTÍNEZ-PACHECO. Evaluation of Eudragit E as major excipient in tablets of dry plant extracts. **S.T.P.Pharma. Sciences**, v. 6, n.2, p. 105-109, 1996.

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

LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LINDEN, R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V. L. Response Surface Analysis Applied to the Preparation of Tablets Containing a High Concentration of Vegetable Spray-Dried Extract. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 441-446, 2000.

NIEMANN, F. **Untersuchung des Temperatur – und Weichmachereinflusses beim Überziehen von Wirkstoffpellets mit dem computergesteuerten Miniatur – Wirbelschicht – Dragierkessel (MiniWid)**. Marburg: Phylipps – Universität, 1991. Tese de Doutorado (Farmácia).

NYQVIST, H. Saturated salt solutions for maintaining specified relative humidities. **International Journal of Pharmaceutical Technology and Product Manufacturing**, v. 4, n. 2, p. 47-78, 1983.

PETEREIT, H.U.; WEISBROD, W. Formulation and Process Considerations Affecting the Stability of Solid Dosage Forms Formulated with Methacrylate Copolymers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 47, p. 15-25, 1999.

PILLAY, V.; FASSHI, R. Unconventional Dissolution Methodologies. **Journal Pharmaceutical Science**, v. 88, p.843-851, 1999.

RENOUX, R.; DEMAZIERES, J.A; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally Designed Optimization of Direct Compression Tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, n. 2, p. 103-109, 1996.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-**

**pedra).** Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

USP 25, NF 31. 2002 United States Pharmacopeial Convention. Rockville

WU, C.; MACGINITY, J.W. Influence of Relative Humidity on the Mechanical and Drug Release Properties of Theophylline Pellets Coated with an Acrylic Polymer Containing Methylparaben as a Non-Tradiconal Plasticizer. **European Journal of Pharmaceutcs and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 277-284, 2000.

## 6. AGRADECIMENTOS

A equipe agradece o suporte financeiro do CNPq e FAPERGS através da concessão de bolsas de iniciação científica e doutorado aos autores.

**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

---



O desenvolvimento tecnológico de medicamento pressupõe o domínio de todas as etapas envolvidas na sua produção, centralizadas na sua finalidade de uso e correlacionadas com o desenho proposto da forma farmacêutica (BRASIL, 2003). No caso de fitomedicamentos as etapas de desenvolvimento do produto devem atender as especificidades das matérias-primas, produto intermediário e finais, bem como as fases do processamento. Sob estas visões foi realizado este trabalho, tendo como modelo a planta medicinal *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). Iniciou-se, portanto, com a avaliação da matéria-prima vegetal. Apesar da espécie vegetal *Phyllanthus niruri* ser extensivamente estudada fitoquimicamente, ainda não foi possível a identificação exata dos seus componentes ativos. No entanto, estudos sugerem uma tendência de envolvimento dos polifenóis com a atividade farmacológica, principalmente, a ligada com a urolitíase (CAMPOS e SCHOR, 1999).

Sendo assim, estudou-se a viabilidade de desenvolvimento de uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), para quantificação de polifenóis, que pudesse ser utilizada para o controle de qualidade da matéria – prima vegetal e produtos derivados. Após vários ensaios preliminares, otimizou-se um sistema cromatográfico capaz de separar satisfatoriamente três substâncias, umas das quais identificadas como ácido gálico, o qual foi utilizado como padrão de referência para validação do método. As demais substâncias separadas não puderam ser identificadas, porém, o espectro de UV revelou tratar-se de uma flavona e de um derivado do ácido gálico.

A validação do método foi realizada com a solução extrativa aquosa (SE) e com o produto seco por aspersão (PSA), utilizando ácido gálico como substância padrão. O método mostrou linearidade e elevada precisão intermediária (FDA, 2000). A exatidão do método foi demonstrada através da recuperação do ácido gálico da matriz biológica. Os resultados de validação do método para o PSA confirmaram que a presença de adjuvante não interferiu na análise dos polifenóis tornando assim factível sua utilização no controle de processo durante a elaboração da forma farmacêutica final.

O produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri*, produzido em escala semi-industrial ( $TSA_{\text{Sind}}$ ), utilizando torre de secagem com sistema giratório de aspersão,

apresentou melhores características tecnológicas do que quando produzido em escala laboratorial, em aparelho com sistema de aspersão pneumático (TSA<sub>lab.</sub>) (SOARES, 1997; COUTO, 2000). O produto obtido em TSA<sub>sind</sub> apresentou tamanho de partícula cerca de seis vezes maior, refletindo positivamente no comportamento reológico do pó.

Segundo FOSTER e LEATHERMAN (1995) sistemas com aspersores giratórios favorecem a produção de pós com maior diâmetro particular. No entanto, no presente trabalho, outro fator que contribuiu para melhora tecnológica do pó foi a secagem por aspersão da solução extrativa com elevado teor de sólidos (BRODHEAD e col., 1992; SOARES, 2002), originando um produto seco de maior densidade, o que favoreceu suas características de empacotamento, bem como proporcionou um rendimento operacional elevado.

Apesar do aumento de tamanho de partícula e conseqüentemente melhora nas suas propriedades de fluxo e empacotamento, o PSA continuou apresentando elevada higroscopicidade, fato provavelmente inerente à própria constituição química do produto (BASSANI, 1990; SCHILLER e col., 2000). A sensibilidade frente à umidade atmosférica e, deficientes propriedades de compressibilidade são fatores, característicos de extratos secos vegetais, que dificultam o desenvolvimento de comprimidos contendo alto teor desses produtos (ROCKSLOH e col., 1999). Dessa forma, o emprego da granulação tem se mostrado como uma possível alternativa para contornar esses problemas (PLAIZIER-VERCAMMEN e BRUWIER, 1986; DÍAZ e col., 1996; COUTO, 2000).

Com relação à sensibilidade à umidade, a granulação do produto, além da diminuição da área superficial pode não oferecer maior proteção ao extrato seco (ONUNKWO e UDELA, 1995). Porém, a adição de adjuvantes na formulação além de auxiliar no processo de granulação pode funcionar como agente protetor contra a umidade (DÍAZ e col., 1996). A utilização da resina acrílica Eudragit E como aglutinante na granulação via úmida demonstrou diminuir a higroscopicidade de grânulos contendo extratos secos vegetais, constituindo uma estratégia tecnológica interessante (DÍAZ e col., 1996).

No presente trabalho foi avaliada a viabilidade de obtenção de granulados por via seca e por via úmida, neste último caso utilizando uma solução de Eudragit E em acetona (12,5 % m/v) como líquido de aglutinação, visando o aumento da resistência à umidade do produto e melhora das características compressionais. Os resultados demonstraram que ambas as técnicas de granulação originaram produtos com características tecnológicas satisfatórias, revelando que estas propriedades foram influenciadas pela técnica de granulação. Os granulados obtidos por via úmida apresentaram densidades bruta e de compactação significativamente menor que os granulados obtidos por via seca, o que é inerente a própria técnica de granulação (LIEBERMAN e col., 1989). Como consequência dessas diferentes características, a força de compressão necessária para consolidação dos grânulos numa massa comprimida é bastante diferente.

O comportamento do PSA e granulados frente à compressão foi avaliado através do modelo de Heckel (HUBERT-DROZ e col., 1982; YLIRUUSI e col., 1997). Os resultados sugerem que o PSA apresenta comportamento de deformação essencialmente plástico, enquanto que o granulado obtido por via seca mostrou comportamento característico de materiais que apresentam simultaneamente deformação plástica e por fragmentação. A análise do perfil compressional dos granulados obtidos por via úmida sugere um comportamento predominante plástico.

Os granulados revelaram resultados promissores com relação à obtenção de comprimidos. A avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos bem como da força de compressão foram realizados a fim de projetar uma formulação com maior teor de PSA e melhores características tecnológicas.

O desenvolvimento e otimização de produtos empregando experimentos fatoriais apresenta como principal vantagem a possibilidade de obter-se o máximo de informações sobre as respostas analisada através de um menor número de experimento, o que significa economia de tempo e de recursos. Além do que, os desenhos estatísticos conduzem ao estabelecimento de modelos matemáticos que, quando adequadamente validados, permitem prever comportamentos das variáveis de resposta no campo experimental estudado (MONTGOMERY, 1992; WHERLÉ e col., 1995, LINDEN e col., 2000).

Considerando o objetivo principal de obtenção de comprimidos, realizou-se estudos de compressão com o PSA em estado pulveréneo e na forma de granulados, obtidos por via seca e por via úmida.

O primeiro experimento realizado foi a avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos e força de compressão sobre as características mecânicas dos comprimidos obtidos com alto teor de PSA (70 %). A seleção dos adjuvantes foi avaliada através de um modelo fatorial qualitativo onde os fatores estudados foram o tipo de desintegrante (Ac-Di-Sol e Primojel) e de material de carga/aglutinante (Avicel e Emcompress) e, as respostas avaliadas foram resistência mecânica e tempo de desintegração dos comprimidos. Este estudo evidenciou que o material de carga/aglutinante foi o fator mais importante para resistência dos comprimidos sendo que o Avicel foi o adjuvante que proporcionou maior dureza, característica que pode estar relacionada ao mecanismo de agregação proporcionado por este adjuvante, uma vez que sua forma fibrosa e disposição, permeando toda a massa compacta, favorecem uma maior coesão estrutural de comprimidos (GONZÁLEZ ORTEGA e SCHMIDT, 1995). Em relação à desintegração, a presença de Ac-Di-Sol na formulação originou comprimidos com tempo de desintegração superior aos demais. A avaliação da influência da força de compressão em função da proporção de Ac-Di-Sol sobre a resistência, friabilidade e tempo de desintegração dos comprimidos demonstrou que, neste caso, esse fator foi o determinante da dureza e friabilidade, independente da proporção de Ac-Di-Sol. Com relação ao tempo de desintegração apesar de ambos os fatores apresentarem influência significativa, a concentração do desintegrante demonstrou ser o fator mais importante.

A elaboração de comprimidos a partir de granulados, obtidos por via úmida, contendo diferentes proporções de Eudragit E como aglutinante foi realizada com o objetivo de avaliar as características mecânicas, bem como, sensibilidade à umidade dos comprimidos obtidos. Os resultados demonstraram que a dureza, friabilidade e perfil de dissolução apresentaram forte influência da proporção de Eudragit E presente nos granulados bem como da força de compressão empregada. No entanto, o resultado mais importante foi o fato desses granulados originarem, de modo geral, comprimidos que, comparados aos obtidos com granulado seco, mostraram lenta cedência do PSA, mesmo em meio ácido. A sorção de umidade dos

comprimidos também foi dependente da proporção de Eudragit E na formulação, somente uma concentração igual ou superior a 5 % foi capaz de proporcionar comprimidos com menor higroscopicidade, resultado que refletiu os achados de DÍAZ e col. (1996). No entanto, apesar dos comprimidos elaborados com 10 % de Eudragit E apresentarem adequadas características tecnológicas e baixa higroscopicidade, o elevado tempo de cedência do PSA justifica maiores estudos a fim de otimização de uma formulação que proporcione a elaboração de comprimidos com menor tempo de desintegração e mais rápida cedência do PSA.

Os estudos de compressão realizados com o granulado seco foram realizados no sentido de otimizar uma formulação para obter comprimidos com alta resistência mecânica e rápida desagregação. Os experimentos consideraram a determinação das proporções ideais dos adjuvantes na fase externa da formulação e a avaliação do efeito da força de compressão sobre as propriedades dos comprimidos obtidos.

O estudo de otimização das proporções ideais de adjuvantes foi realizado, considerando uma proporção fixa de 71,43 % de granulado seco, equivalente a 70 % de PSA, através de um desenho composto central, onde as variáveis independentes foram as concentrações de estearato de magnésio e de croscarmelose sódica e, as variáveis dependentes foram a resistência corrigida e o tempo de desintegração dos comprimidos. Os resultados demonstraram que a resistência dos comprimidos foi sensível apenas às variações das concentrações de estearato de magnésio, apresentando uma influência negativa sobre a dureza dos comprimidos. Tal fenômeno pode ser explicado pela propriedade do estearato de magnésio de formar um filme sobre as partículas que compõem a formulação, conduzindo a uma menor coesão das mesmas e, conseqüentemente, formação de compactos menos resistentes (WILLIAMS e MCGINITY, 1989). Através dos gráficos de superfície de resposta foi possível verificar que existe uma faixa de concentração ótima do estearato de magnésio em relação às características mensuradas.

A proporção de croscarmelose sódica foi o principal responsável por variações no tempo de desintegração, no entanto erros intrínsecos ao próprio experimento impediram a validação de um modelo matemático que servisse para predição do tempos de desintegração em função da concentração do desintegrante.

Sendo assim, um segundo conjunto de experimentos foi realizado no intuito prever a força de compressão, bem como a proporção de desintegrante necessárias para obtenção de comprimidos com alta resistência mecânica e rápido tempo de desintegração. Os resultados demonstraram que ambas as respostas estudadas sofreram influência predominante da força de compressão. Os modelos matemáticos resultantes permitiram determinar a concentração de desintegrante e força de compressão ideais para a obtenção de comprimidos com as características desejadas. Os valores preditos teóricos puderam ser comprovados experimentalmente.

De modo geral, considerando as características mecânicas dos comprimidos bem como maior rendimento operacional, os resultados demonstraram que entre as diferentes técnicas avaliadas para a obtenção de comprimidos, a granulação via seca foi a que apresentou melhor viabilidade de produção.

No entanto, apesar da viabilidade de obtenção de comprimidos com alto teor de PSA e satisfatórias características tecnológicas, a alta sensibilidade à umidade atmosférica permanece, fato inerente à elevada concentração de PSA na formulação (COUTO, 2000; SOARES, 2002).

Assim, estudos iniciais de revestimentos de comprimidos foram realizados a fim de verificar a capacidade de proteção contra a umidade ambiental. O polímero Eudragit E, resina acrílica gastro-solúvel, foi empregada como filmógeno de revestimento (BAUER e col., 1998). Os comprimidos revestidos apresentaram adequadas características tecnológicas e homogeneidade. Além disso, o filmógeno foi capaz de causar uma proteção à umidade sem alteração do perfil de cedência do PSA e do tempo de desintegração.

O revestimento dos comprimidos de PSA mostrou boas perspectivas no sentido de aumentar sua estabilidade frente a variações de umidade atmosféricas, no entanto, maiores estudos devem ser realizados visando a otimização do processo, concentração e espessura do filme de revestimento.

CONCLUSÕES

---

- O método por cromatografia líquida de alta eficiência desenvolvido e validado comprovou ser aplicável na avaliação quantitativa do marcador eleito, ácido gálico, na matéria-prima vegetal, nos produtos intermediários do processamento (solução extrativa, produto seco por aspersão e granulados) e produtos finais (comprimidos e comprimidos revestidos);
- O produto seco por aspersão obtido em torre de secagem semi-industrial apresentou melhores características tecnológicas que o produto obtido em escala laboratorial. Entre as principais mudanças destacam-se, o aumento do tamanho de partícula, maior densidade bruta e de compactação e rendimento operacional;
- O desenho da torre de secagem, dotado de aspensor giratório, e o maior teor de sólidos presentes na solução a secar foram fatores determinantes para as melhores características do produto seco por aspersão obtido;
- A operação de granulação, tanto por via seca como por via úmida, foi eficiente em produzir granulados com melhores características reológicas e de compressibilidade que o PSA;
- Independente da técnica de granulação, os granulados apresentaram similar distribuição granulométrica, no entanto, as propriedades relativas a densidade e física de compressão variaram de acordo com a técnica empregada;
- Os granulados obtidos por via seca apresentaram maiores densidade e pressão média de deformação que os granulados obtidos por via úmida;
- Em relação ao comportamento compressional, o PSA e granulados obtidos por via úmida mostraram-se predominante plásticos, enquanto que os granulados obtidos por via seca apresentaram um comportamento simultaneamente plástico e fragmentativo;
- A presença de Eudragit E, dissolvido em acetona, como aglutinante para granulação por via úmida, proporcionou granulados que apresentaram menor sensibilidade à umidade atmosférica que o PSA e o granulado obtido por via seca;
- A compressão direta do PSA foi extremamente dependente do tipo de adjuvante empregado, bem como da força de compressão aplicada. Formulações



elaboradas com croscarmelose sódica (Ac-Di-Sol), celulose microcristalina (Avicel PH 101) e força de compressão de 5000 N produziram comprimidos com características tecnológicas mais apropriadas, ou seja, com alta resistência mecânica e rápido tempo de desintegração;

- Os comprimidos obtidos a partir dos granulados elaborados por via úmida contendo diferentes proporções de Eudragit E, como agente aglutinante, apresentaram adequadas características tecnológicas e menor sensibilidade à umidade atmosférica. No entanto, mostraram lenta cedência do PSA, principalmente se comparados ao perfil de liberação dos comprimidos obtidos por granulação via seca;
- O estudo de otimização de comprimidos contendo granulado seco evidenciou que o aumento da proporção de estearato de magnésio, como fase externa, na formulação, ocasiona uma redução da resistência mecânica dos comprimidos, no entanto, não apresenta significativa influência sobre o tempo de desintegração, parâmetro este dependente da proporção de croscarmelose sódica (AC-Di-Sol) presente na formulação.
- No desenvolvimento de comprimidos por granulação via seca, a força de compressão foi a variável mais importante do processo e determinante tanto da resistência dos comprimidos como do tempo de desintegração dos mesmos;
- O estudo de otimização de comprimidos, contendo alto teor de PSA na forma granulada, realizado através de desenhos fatoriais, permitiu a obtenção de modelos matemáticos validados adequados à predição das proporções estearato de magnésio, croscarmelose sódica e da força de compressão ideais para a obtenção de comprimidos com características tecnológicas definidas;
- Os comprimidos revestidos obtidos além de apresentarem menor sensibilidade à umidade mostraram elevada resistência mecânica com rápido tempo de desintegração e velocidade de cedência do PSA.

**BIBLIOGRAFIA GERAL**

---

AKERELE, O. The Who traditional medicine program: policy and implementation. **International Medicine Newsletter**, v. 1, n.1, p. 1-3, 1985.

ALAM, A.S.; PARROT, E.L. Effect of Adjuvants on Tackiness of Polyvinylpyrrolidone Film Coating. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 61, n. 2, p. 265-272, 1972.

AMAT, AG. VAJIA, M.E.; RODRIGUEZ, M.E.; SANCHEZ, F. Estudio farmacobotánico y farmacognóstico de *Phyllanthus niruri* L. y *Phyllanthus tenellus* Roxb. (Euphorbiaceae). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 10, n. 3, p. 161-169, 1991.

ANDLAUER W.; MARTENA, M.J.; FÜRST P. **Journal of Chromatography A**, v. 849, p. 341-348, 1999.

ANJANUJULU, A.S.R.; RAO, K.; JAGANMOHAN, K.; ROW, L.R.; SUBRAHMANYAN, C. Crystalline Constituents of Euphorbiaceae. XII. Isolation and Structural Elucidation of Three New Lignans from the Leaves of *Phyllanthus niruri*. **Tetrahedron Letters**, v.29, n.10, p.1291-1298, 1973.

ANSEL, H.; POPOVICH, N.; ALLEN Jr., L.V. **Farmacotécnica: formas farmacéuticas e sistemas de liberação de fármacos**. São Paulo: Premier, 1999.

ARAÚJO, ALA e OHARA, M.T. Qualidade microbiológica de drogas vegetais comercializadas em feiras de São Paulo e de infusos derivados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacéuticas**, v. 36, n. 1, p. 129-137, 2000.

ARIZONA Board of Reagents. PETTIT, G.R. Phyllanthostatina. US. 997.817., 5 mar.1991.

BASSANI, V.L. **Valorisation de formes galéniques végétales désalcoolisation et concentration de solutions extraitives sur membrane d'osmose inverse**. Montpellier: Faculté de Pharmacie, 1990. Tese de Doutorado.

BAST, A.; CHANDLER, F.; CHOY,P.C.; DELMULLE, M.L.; GRUENWALD, J.; HALKES, B.A.; KELLER, K.; KOEMAN, P.P.; PRZYREMBEL, H.; REE, E.M.; RENWICK, A.G.; VERMEER, I.T.M. Botanical Health Products, Positioning and Requirements for Effective and Safe Use. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 12, p. 195-211, 2002.

BAUER, K.H.; LEHMANN, K.; OSTERWALD, H.P.; ROTHGANG, G. **Coated Pharmaceutical Dosage Forms: Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods and Raw Materials**. CRC Press: Florida, 1998

BONATI, A. How and Why Should we Standardize Phytopharmaceutical Drugs for Clinical Validation? **Journal of Ethnopharmacology**, v.32, p. 195-197, 1991.

BOYD, M.R. The Position of Intellectual Property Rights in Drug Discovery and Development from Natural Products. **Journal of Ethnopharmacology**, n.51, p. 17-27, 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução de Diretoria Colegiada nº 210 de 04 de agosto de 2003. Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 14. ago. 2003.

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

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária, Portaria nº 6 de 31 de janeiro de 1995. Regulamenta o registro de produtos fitoterápicos no Brasil. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília**, 1995.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Consulta Pública nº 94, de 6 de novembro de 2003. Dispõe sobre a regulamentação de registro de produtos fitoterápicos sujeitos à vigilância sanitária. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, 07. nov. 2003.

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

CALIXTO, J.B. Efficacy, Safety, Quality Control, Marketing and Regulatoring Guidelines for Herbal Medicine (Phytotherapeutic Agent). **Brazilian Journal of Medical and Biological research**, v. 33, n. 179-189, 2000.

CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.S; CECHINEL-FILHO, V.; YUNES, R.A. A Review of the Plants of Genus *Phyllanthus*: Their Chemistry, Pharmacological and Therapeutic Potential. **Medical Research Review**, v. 18, n. 14, p. 225-258, 1998.

CAMPOS, A.H.; SCHOR, N. *Phyllanthus niruri* Inhibits Calcium Oxalate Endocytosis by Renal Tubular Cells: Its Role in Urolithiasis. **Nephron**, v. 81, n. 4, p. 393-397, 1999.

CAMPOS, A.M. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Ilex paraguariensis* St. Hil. Aquifoliaceae (erva-mate)**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. Dissertação

CAPASSO, R.; IZZO, A.A.; PINTO, L.; BIFULCO, T.; VITOBELLO, C.; MASCOLO, N. Phytotherapy and Quality of Herbal Medicines. **Fitoterapia**, v. 71, p. 58-56, 2000.

CARVALHO, E.L.S. **Desenvolvimento de extrato seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss. (espinheira santa)**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1997. Dissertação de Mestrado.

CARVALHO, J.C.T.; GOSMANN, G.; SCHENKEL, E.P. Compostos fenólicos simples e heterosídeos. In: SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org) **Farmagnosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. amp., Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003. Cap. 20, 519-535.

CASADEIBAG, J.L. **Realisation d'extraits secs nebulisés. Optimisation de formes galéniques de origine végétale a activité diuretique.** Montpellier: Faculté de Pharmacie Université de Montpellier, 1987. Tese de Doutorado

CHAUHAN, J.S.; SULTAN, M.; SRIVASTAVA, S.K. Two New Glycoflavones from Roots of *Phyllanthus niruri*. **Planta Medica**, v. 32, p. 217-222, 1977.

CLAESSENS, H.A; VAN STRATEN, M.A; CRAMERS, C.A; JEZIERSKA, M.; BUSZEWSKI, B. Comparative Study of Test Methods for Reversed-Phase Columns for High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 826, p. 135-156, 1998.

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

CROZIER, A; JENSEN, E.; LEAN, M.E.J.; McDONALD, M.S. Quantitative Analysis of Flavonoids by Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatograph, **Journal of Chromatography A**, v. 761, p. 315-321, 1997.

CZECH, E.; KNEIFEL, W.; KOPP, B. Microbiological Status of Commercially Available Medicinal Herbal Drugs – A Screening Study. **Planta Medica**, v. 67, p. 263-269, 2001.

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

DABUR Research Foundation (India). MEHROTRA, R.L.; KATIYAR, K.C.; GUPTA, A.P. Hepatoprotective Compositions and Compositions for Treatment of Conditions Related to Hepatitis B and Infeccion. US 6.136.5161, 24.oct.2000.

DALLUGE, J.J. e NELSON, B.C. Determination of Tea Catechins. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p. 411-424, 2000.

DE PAULA, I. C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V.L.; PETROVICK, P.R. Development of Ointment Formulations Prepared with *Achyrocline satureioides* Spray-Dried Extracts. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 24, n. 3, p. 235-241, 1998.

DE PAULA, I.C. **Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato seco nebulizado de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae - marcela.** Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação

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

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

DE SOUZA, K.C.B.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. The Adjuvants Aerosil 200 and Gelita-Sol-P influence on the Technological Characteristics of Spray-dried Poeders from *Passiflora edulis* var. *flavicarpa*. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 3, p. 331-336, 2000a.

DE SOUZA, T.P. **Influência de adjuvantes farmacêuticos nas características tecnológicas de compactos contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss**. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1999. Dissertação de Mestrado.

DE SOUZA, T.P.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; BASSANI, V. L.; PETROVICK, P.R. Avaliação da viabilidade de compressão direta de formulações contendo alto teor de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia*. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 19, n. 2, p. 53-60, 2000.

DE SOUZA, T.P.; HOLZSCHUH, M.H.; LIONÇO, M.I.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Validation of a LC Method for the analysis of Phenolic Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial Parts. **Journal of Pharmaceutics and Biomedical Analysis**, v. 30, p. 351-356, 2002.

DÍAZ, L.M.; SOUTO, C.; CONCHEIRO, A.; GÓMEZ-AMOZA, J.L.; MARTÍNEZ-PACHECO. Evaluation of Eudragit E as major excipient in tablets of dry plant extracts. **S.T.P. Pharma. Sciences**, v. 6, n.2, p. 105-109, 1996.

DING, M.; YANG, H.; XIAO, S. Rapid, Direct Determination of Polyphenols in Tea by Reversed-phase Column Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 849, p. 637-640, 1999.

ELISABETSKY, E.; DE SOUZA, G.C. Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org) **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. amp., Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003. Cap. 6, p. 107-122.

ESCARPA, A e GONZÁLEZ, M.C. Approach to the Content of Total Extractable Phenolic Compounds from Different Food Samples by Comparison of Chromatographic and Spectrophotometric Methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 427, p. 119-127, 2001

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Org.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003, cap. 12. p. 263 - 288.

FARIAS, M.R.S.; SCHENKEL, E.P.; BERGOLD, A.M.; PETROVICK, P.R. O problema da qualidade dos fitoterápicos. **Caderno de Farmácia**, v. 1, n. 2, p. 73-82, 1985.

Farmacopéia Brasileira. Monografias em Consulta Pública para o 5 fascículo, 2003. Disponível em: <www.ufsm.br/farmacopeia>. Acesso em 20 out. 2003.

Food and Drug Administration. **Guidance for Industry: Botanical Drugs Products**. Rockville: USA, FDA, 2000.

FOSTER, T.P.; LEATHERMAN, M.W. Powder Characteristics of Proteins Spray-Dried from different Spray Dryers. **Drug Development Industry Pharmacy**, v. 21, n. 15, p. 1705-1723, 1995.

FOX Chase Cancer Center. VENKATESWARAN, P.S.; MILLMAN, I.; BLUMBERG, B.S. Method of Treating Retrovirus Infection. US 4.937.074, 26 jun. 1990.

FOX Chase Cancer Center. VENKATESWARAN, P.S.; MILLMAN, I.; BLUMBERG, B.S. Composition, Pharmaceutical Preparation and Method for treating Viral Hepatitis. US 4.673.575, 16 jun. 1987.

FREIRE, R.B. e COSTA, J. Contribuição ao estudo farmacognóstico dos "Quebra-Pedra". **Boletim Rodolpho Albino**, v. 1., n. 2, p. 38-47, 1980.

FREITAS, A.M.; SCHOR, N.; BOIM, M.A. The Effect of *Phyllanthus niruri* on Urinary Inhibitors of Calcium Oxalate Crystallization and Other Factors Associated with renal Stone Formation. **BJU International**, v. 89, p. 829-834, 2002.

GARCIA, M.C. **Determinação da atividade antimicrobiana e caracterização físico-química e biológica de *Phyllanthus niruri* L. e *Phyllanthus tenellus* Roxb. (Euphorbiaceae)**. Santa Maria: Curso de Ciência e Tecnologia Farmacêutica. UFSM, 2000. Dissertação de Mestrado.

GAUDY, D.; PUECH, A.; JACOB, M. Rôle de l'adjuvant dans l'optimisation de la production d'un extrait de noix vomique. **Pharmaceutica Acta Helveticae**, v. 66, n.1, p. 5-10, 1991.

GONZÁLEZ ORTEGA, G. e SCHMIDT, P.C. Obtención de comprimidos conteniendo extractos atomizados de flor de la pasión (*Passiflora incarnata* L.). **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 14, n. 3, p. 173-180, 1995.

GUPTA, D.R.; AHMED, B. Nirurin: a New Phenylated Flavonone Glycoside from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**, v. 47, n. 6, p. 958-963, 1984.

HOEPFNER, E.M.; RENG, A.; SCHMIDT, P.C. **Fiedler Encyclopedia of Excipients for Pharmaceutical, Cosmetics and Related Areas**, 5. ed., Germany: Editio Cantor Verlag aulendorf, 2002, v. 1 e v.2.

HUBERT-DROZ, P.; MODIER, D.; DOELKER, E. Rapid Method of Determination of Compression Behaviour for Preformulation Studies. **Pharmaceutica Acta Helveticae**, v. 57, p. 136-143, 1982.

HUSSAIN, R.A.; DICKET, J.K.; ROSSER, M.P.; MATSON, J.A.; KOSLOWSKI, M.R.; BRITAIN, R.J.; WEB, M.L.; ROSE, P.M.; FERNANDES, P. A Novel Class of Nonpeptide Endotelin Antagonists Isolated from Medicinal Herb *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**, v.58, n. 10, p. 1515-1520, 1995.

IKUTA, A.R.Y. **Estudos sobre a propagação de marcela, *Achyrocline satureioides* (Lam) D.C., Compositae**. Porto Alegre: Faculdade de Agronomia, UFRGS, 1993. Dissertação de mestrado.

INTERNATIONAL Conference on Harmonization (ICH) **Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology**. Rockville: FDA, 1996.

ISHMARU, K.; YOSHIMATSU, K.; YAMAKAWA, T.; KAMADA, H.; SHIMOMURA, K. Phenolic Constituents in Tissue Cultures of *Phyllanthus niruri*. **Phytochemistry**, v.31, n.6, p.2015-2918, 1992.

JACOB, M.; PUECH, A.; DURU, C.; FRESQUET, J. Elaboration d'extraits végétales adsorbés. Obtention d'un extrait de *Belladone* sur support Aerosil. **Revue Science Technologie Pharmacie**, v. 5, n.2, p. 79-80, 1976.

JACOB, M.; SOERDIRO, S.; PUECH, A.; DURU, C.; CAVALILLES, L.; PELLECUER, J. Contribution à l'étude de la stabilité des divers extraits végétaux secs. **Pharmaceutica Acta Helvetica**. V. 59, n. 12, p. 335 – 337, 1984.

JEKÖ, Zs. B.; MÁTE, M.; KRAUSZ, E.; BENE, M. Development and Scale Up of a New Film Coated Tablet Containing Dry Herba Extract. **Pharmazie**, v.54, n.2, p.148-150, 1999.

KHANNA, A.K.; RIZVI, F.; CHANDER, R. Lipid Lowering Activity of *Phyllanthus niruri* in Hyperlipemic Rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 1, p. 1-4, 2002.

LE HIR, A. **Farmacia galénica**. Barcelona: Masson, 1995.

LEBLANC & BECKER. ROHATGI, S. Ayurvedic Composition for the Prophylaxis and Treatment of Aids, Flu, TB and other Immuno-deficiencies and the Process for Preparing the same. US 5.529.778, 25 jun. 1996.

LIBERMAN, H.A.; LACHMAN, I.; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 2 ed., New York: Marcel Dekker, 1989. 3V.

LINDEN, R. **Desenho estatístico de experimentos e metodologia de superfície de respostas aplicados à obtenção de formas farmacêuticas derivadas de *Passiflora edulis***, Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1998. Dissertação de mestrado.

LINDEN, R.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V. L. Response Surface Analysis Applied to the Preparation of Tablets Containing a High Concentration of Vegetable Spray-Dried Extract. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 4, p. 441-446, 2000.



LIST, P.H. e SCHIMDT, P.C. **Phytopharmaceutical Technology**. Boca Raton: CRC, 1989.

LOPES, E.C. **Desenvolvimento tecnológico e caracterização de suspensões de nanocápsulas poliméricas contendo etionamida**, Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1998. Dissertação de mestrado.

MAGALHÃES, P.M. **O caminho medicinal das plantas: aspectos sobre o cultivo**. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1997.

MARTÍNÉZ-PACHECO, R.; VILA JATO, J.L.; CONCEIRO, A.; SOUTO, C.; LOSA, C.M.; RAMOS, T. Effect of Compression Force on Biopharmaceutical Characteristics of Eudragit RS-based Cephalexin Tablets. **International Journal Pharmaceutical of Science**, v.47, p.37-42, 1988.

MARTINS, A.G. **Influência de fatores tecnológicos na avaliação analítica e farmacológica de extratos secos de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de Mestrado.

MARTINS, H.M.; MARTINS, M.L; DIAS, M.I.; BERNARDO, F. Evaluation of Microbiological Quality of Medicinal Plants Used in Natural Infusions. **International Journal of Food Microbiology**, v. 68, p. 149-151, 2001.

MASTERS, K. **Spray Drying**. 2 ed., New York: John Wiley, 1978.

MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais, guia de relação e emprego de plantas medicinais do nordeste do Brasil**,. Fortaleza: IOCE, 1989. v.2.

MEIXIA, W; HAOWEI, C.; YANJUNG, L.; LINMIN, M.; GULONG, Z.; KAI, M. Herbs of the Genus *Phyllanthus* in the Treatment of Chronic Hepatitis B: Observations with Three Preparations from Different Geographic Sites. **Journal Laboratory Clinical Medical**, v. 126, p. 350-352, 1995.

MELO, M.E.A.; COELHO, S.T.S.N.; SANTOS, D.R.; AJZEN, H.; SCHOR, N. Urolitíase experimental: avaliação do efeito do chá de quebra-pedra (*Phyllanthus niruri*). **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.13, n.1, p. 26-30, 1991.

MENGUE, S.S.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, E.P. Uso de plantas medicinais na gravidez. In: SANSEVERINO, M.T.V.; SPRITZER, D.T.; SCHÜLER-FACCINI, L. **Manual de teratogênese**. Porto Alegre: UFRGS, 2001.

MIGUEL, O.G.; CALIXTO, J.B.; SANTOS, A.R.; MESSANA, I.; FERRARI, F.; CECHINEL FILHO, V.; PIZZOLATTI, M.G.; YUNES, R.A. Chemical and Preliminary Analgesic Evaluation of Gerannin and Furosin Isolated of *Phyllanthus selowianus*. **Planta Medica**, v. 6, n. 2, p. 146-149, 1996.

MILBURY P.E. Analysis of Complex Mixtures of Flavonoids and Polyphenols by High – Performance Liquid Chromatography Electrochemical Detection Methods. **Methods in Enzymology**, v. 335, p. 15-26, 2001.

MONTANARY JUNIOR, J. Produtividade agrícola de 6 espécies de *Phyllanthus* e observações sobre a viabilidade de seus cultivos In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 16, 2000, Recife, PE, **Programas e resumos...**, Recife, 2000.

MONTGOMERY, D.C. **Diseño y análisis de experimentos**. México: Iberoamérica, 1992.

MULCHANDAN, N.B.; HASSARAJANI, S.A. 4-methoxynorsecurinine, a New Alkaloid from *Phyllanthus niruri*. **Planta medica**, v.50, n.1, p.104-105, 1984.

MÜLLER, C. **Desenvolvimento tecnológico e avaliação biológica de nebulizados de nanocápsulas e nanoesféras contendo diclofenaco**. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1999. Dissertação de mestrado.

NIELSEN, F. Spray-Drying of Pharmaceuticals. **Manufacture, Chemical, Aerosol News**, v. 53, p. 38-39, 1982.

ONUNKWO, G.C.; UDEALA, O.K. Studies on *Rauwolfia vomitoria* Root III. Flow properties of R. vomitoria Granulations. **S.T.P. Pharma Pratiques**. v.5, n.4, p. 296-301, 1995.

PALMA, S.D.; MANZO, R.H. ALLEMANDI, D.A. Dry Plant Extracts Loaded on Fumed Silica for Direct Compression: Preparation and Preformulation. **Pharmaceutical Development Technology**, v. 4, n. 4, p. 523-530, 1999.

PÉREZ, L.M.D. **Diseño y evaluation de comprimidos convencionales y de cesion controlada de extractos secos (*Plantago lanceolata*)**. Santiago de Compostela: Universidade de Santiago de Compostela, 1995. Tese de doutorado.

PETEREIT, H.U., WEIBSBROD, W. Formulation and process considerations affecting the stability of solid dosage forms formulated with methacrylate copolymers. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 47, p.15-25. 1999.

PETROVICK, P.R. **Tecnologia Farmacêutica**. Polígrafo de acompanhamento. Disciplina de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia:UFRGS, abril, 2003.

PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; BASSANI, V.L. From a Medicinal Plant to a Pharmaceutical Dosage Form. A (still) Long Way for the Brazilian Medicinal Plants. **Ciência e Cultura**, v. 49, n. 5/6, p. 364-369, 1997.

PETROVICK, P.R.; ORTEGA, G.G.; LINCK, V.B. Compression Characteristics of Spray Dried Extracts from Medicinal Plants. In: AAPS ANNUAL MEETING, 10, 1995, Miami, **Pharmaceutical Research**, v. 12, suppl., p. S-167, 1995. PT 6123.

PETRY, R.D. **Desenvolvimento e validação de métodos e doseamento de *Passiflora edulis* Sims. (Maracujá)**. Porto Alegre: Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. 1999. Dissertação de Mestrado.

PIO CORRÊA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1969. v. 6, p. 134-135.

PLAIZIER-VERCAMMEN J.A.; BRUWIER, C. Evaluation of Excipients for Direct Compression of the Spray-Dried Extract of *Harpagophytum procumbens*. **S.T.P. Pharma**, v.2, p.525-530, 1986.

PLAIZIER-VERCAMMEN, J.A.; BOURGEOIS, A.; DE BOEKE, L. Evaluation of Emcocel® 50 e Emcocel® 90, a New Excipient in Direct Compression. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 17, p. 763-776, 1991.

POLYA, G.M.; WANG, B.H.; FOO, L.Y. Inhibition of Signal-Regulated Protein Kinases by Plant-Derived Hydrolysable Tannins. **Phytochemistry**, v. 38, n. 2, p. 307-314, 1995.

PRAKASH, A.; SATYAN, K.S.; WAHI, S.P.; SING, R.P. Comparative Hepatoprotective Activity of Three Phyllanthus Species, *P. urinaria*, *P. niruri* and *P. simplex*, on Carbon Tetrachloride Induced Liver Injury in the Rat. **Phytotherapy Research**, v.9, n. 8, p. 594-596, 1995.

PRIEDERRE, P.; CAUTURE, E.; PICCERELLE, Ph.; KALANTZIS, G.; KALOUSTIAN, J.; JOACHIM, J. Evaluation of Some Protective Agentes on Stability and Controlled Release of Oral Pharmaceutical Forms by Fluid Bed Technique. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 8, p. 817-826, 1997.

QUIANCUTRONE, A.U.; HUANG, J.F.; TRIMBLE, S.; LI, J.; LIN, H.; ALAM, P.F.; KLOHR, M.; KADOW, S.E. Niruside, a New HIV VER/RRE Binding inhibitor from *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Product**, v. 59, n. 2, p. 196-199, 1996.

REIS, M.S.dos; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P. de; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (org.) **Farmagnosia: da planta ao medicamento**. 5 ed. rev. ampl., Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, 2003. Cap. 3.

RENOUX, R.; DEMAZIERES, J.A.; CARDOT, J.M.; AIACHE, J.M. Experimentally Designed Optimization of Direct Compression Tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 22, n. 2, p. 103-109, 1996.

ROCKSLOH, K.; RAPP, F.R.; ABU ABED, S.; MÜLLER, W.; REHER, M.; GAUGLITZ, G.; SCHMIDT, P.C. Optimization of Crushing Strength and Disintegration Time of a High-Dose Plant Extract Tablet by Neural Networks. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 9, p.1015-1025, 1999.

RODRÍGUEZ-DELGADO M.A; MALOVANÁ, S.; PÉREZ, J.P.; BORGES T.; MONTELONGO, F.J.G. Separation of Phenolic Compounds by High-Performance

Liquid Chromatography with Absorbance and Fluorimetric Detection. **Journal of Chromatography A**, v. 912, p.249-257, 2001.

ROSS, I. A. **Medicinal plants of the World: Chemical Constituents, Tradicional and Modern Medicinal Uses**. New Jersey: Humana Press, 1999.

SANTOS, A.R.S.; FILHO, C.V.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Analysis of the Mechanisms Underlying the Antinoceptive Effect of the Extracts of Plants from the Genus *Phyllanthus*. **Gen. Pharmacol.**, v. 26, n. 7, p. 1499-1506, 1995b.

SANTOS, A.R.S.; FILHO, V.C.; YUNES, R.A.; CALIXTO, J.B. Futher Studies on the Antinoceptive Action of Hydroalcoholic Extracts from Plants of the Genus *Phyllanthus*. **Journal Pharmaceutical Pharmacology**, v. 47, p. 66-71, 1995.

SANTOS, D.R. **Chá de qebra-pedra (*Phyllanthus niruri*) na litíase urinária em humanos e em ratos**. São Paulo: Escola Paulista de Medicina. 1990. Dissertação de Mestrado.

SCHENKEL, E.P.; SIMÕES, C.M.O.; MENGUE, S.S.; MENTZ, L.A.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. O espaço das plantas medicinais e suas formas derivadas na medicina científica. **Caderno de Farmácia** (Porto Alegre), v. 1, n. 2, p. 65-72, 1985.

SCHILLER, M.; VON DER HEYDT, H.; MÄRZ, F.; SCHMIDT, P.C. Determination of carbohydrate content of plant dry extracts and comparison with their water sorption behavior. **Archiv der Pharmazie**, v. 33, (S1/100), p. 27, 2000.

SCHMID, S.; MÜLLER-GOYMANN, C.C; SCHMIDT, P.C. Interactions During Aqueous Film Coating of Ibuprofen with Aquacoat ECD. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 197, p. 35-39, 2000.

SCHMIDT, P.C. e SOYKE, B. Development of a Chamomile Preparation Containing Matricine. **Pharmazie**, v.47, p.516-518, 1992.

SEITZ, J.A.; MEHTA, S.P.; YEAGER, J.L. **Revestimento de comprimidos**. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica, Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

SENNA, E.M.T. **Desenvolvimento de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. COMPOSITAE (marcela)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1993. Dissertação de mestrado.

SHARMA, A.; SINGH, R.T.; HANDA, S.S. Determination of Phyllantin and Hypophyllantinthin by High-performance Liquid Chromatography in *Phyllanthus amarus*. **Phytochemical Analysis**, v. 4, n.5, p. 226-229, 1993.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, L.E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 2 ed., Porto Alegre: UFRGS, 1995.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, L.E.P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul**. 5 ed., Porto Alegre: UFRGS, 2003.

SOARES, L.A.L. **Obtenção de comprimidos contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Maytenus ilicifolia* Mart. ex. Reissek – Celastraceae**. Desenvolvimento tecnológico de produtos intermediários e final. Porto Alegre: Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2002. Tese de Doutorado.

SOARES, L.A.L. **Padronização de extrato aquoso e desenvolvimento de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. Euphorbiaceae (Quebra-pedra)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1997. Dissertação de mestrado.

SOARES, L.A.L.; SCHMIDT, P.C.; GONZÁLEZ ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Efeito da força e velocidade de compressão sobre as propriedades de comprimidos contendo alta concentração de extrato seco vegetal. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 22, n. 2, 147-154, 2003.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. **Analytical Method Development and Validation**. New York: Marcel Dekker, 1997.

TEIXEIRA, H.F. **Avaliação da influência de adjuvantes farmacêuticos sobre as características físicas, químicas, tecnológicas e farmacológicas de extratos secos nebulizados de *Achyrocline satureioides* (LAM.) DC. Compositae (marcela)**. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 1996. Dissertação de mestrado

THE UNITED States Pharmacopeia. 24. rev. ed., Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 2000.

TONA, L.; NGIMBI, N.P.; TSAKALA, M.; MESIA, K.; CIMANGA, K.; APERS, S.; DE BRUYNE, T.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A.J. Antimalarial Activity of 20 Crude Extracts from Nine African Medicinal Plants Used in Kinshasa, Congo. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 68, n. 1-3, p. 193-203, 1999.

UENO, H.; HORIE, S.; NISHI, Y.; ARISAWA, M.; BASUALDO, I. Chemical and Pharmaceutical Studies on Medicinal Plants in Paraguay: Geraniin, an Angiotensin-converting Enzyme Inhibitor from "Paraparai Mi" *Phyllanthus niruri*. **Journal of Natural Products**, v.51, n.2, p.357-35, 1988.

ULYSSÉA, M. **Identificação de espécies de *Phyllanthus* L. (Quebra-pedra) ocorrentes no campus da Universidade Federal de Santa Catarina e arredores**. Florianópolis: Curso de Graduação em Ciências Biológicas, UFSC, 1993. Monografia.

UNANDER, D.W.; WEBSTER, G.L.; BLUMBERG, B.S. Records of Usage or Assays in *Phyllanthus* (Euphorbiaceae): part 1. Subgenera Isocladus, Kirganelia, Cicca and Emblica. **Journal of Ethnopharmacology**, v.30, n.1, p.233-264, 1990.

UNANDER, D.W.; WEBSTER, G.L.; BLUMBERG, B.S. Uses and Bioassays in *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) Part 2. Subgenus *Phyllanthus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.34, n.2-3, p.97-133, 1991.

UNIVERSITY Patents. PETTIT, G.R. Phyllanthostatin Compounds. US 4.388.457, 14 jun. 1983.

VENKATESWARAN, P.S.; MILLMAN, I.; POURRAT, H. Effects of an Extract from *Phyllanthus niruri* on Hepatitis B and Woodchuck Hepatitis Viruses: In vitro and In vivo Studies. **Proc. Nat. Acad. Sci.**, v.84, p. 274-278, 1987.

VENNAT, B.; GROSS, D.; POURRAT, A.; POURRAT, H. Tablets of Hamamelis Dry Extract by Direct Compression: Comparative Study of Natural Starches and Starch Derivates. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 19, n. 11, p. 1357 - 1368, 1993.

VILA JATO, J.L. **Tecnología farmacéutica - Formas farmacéuticas**. Madrid: Síntesis., 1997. v. 2.

VIÑAS P.; LÓPEZ-ERROZ, C.; MARÍN-HERNANDEZ, J.J.; HERNÁNDEZ-CORDOBA, M. Determination of Phenols in Wines by Liquid Chromatography with Photodiode Array and Fluorescence Detection, **Journal of Chromatography A**, v. 871, p. 85-93, 2000.

VOIGT, R. **Pharmazeutische Technologie**. 9. Überarb. Aufl., Stuttgart: Wissenschaftliche, 2000.

WADE, A. e WELLER, P.J. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 2. ed., London: Pharmaceutical, 1994.

WAN, L.S.C.; HENG, P.W.S.; CHA, C.G.H. Spray-drying as a Process for Microcapsulation and the Effect Different Coating Polymers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.18, n.9, p.977-1011, 1992.

WANG, H.; HELLIWELL, K.; YOU, X. Isocratic Elution for the Determination of Catechins, Caffeine and Gallic Acid in Gree Tea Using HPLC. **Food Chemistry**, v. 68, p. 115-121, 2000.

WEBSTER, G.L. A Revision of *Phyllanthus* (Euphorbiaceae) in the Continental United States. **Britonia**, v.22, p. 44-76, 1970.

WENDEL, S. e ÇELIK, M. Uma visão geral sobre o uso de tecnologia de Spray Drying. **Pharmaceutical Technology**, (ed. port.), abril, p. 31-45, 1998.

WHERLE, P.; MAGENHEIM, B.; BENITA, S. The Influence of Process Parameters on PLA Nanoparticle Size Distribution, Evaluated by Means of Factorial Design. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 41, n. 1, p. 19-26, 1995.

WILLIAMS, R.O.; MCGINITY, W.J. Compaction Properties of Microcrystalline Cellulose and Sodium Sulfathiazole in Combination with Talc or Magnesium Stearate. **Journal Pharmaceutical of Sciences**. V. 78, n. 12, 1025-21035, 1989.

WORLD Health Organization. **Good Manufacturing Practices: supplementary guidelines for manufacture of herbal medicine products**. Geneve:WHO, 1996.

WORLD Health Organization. **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials**. Genève: WHO, 1998.

WORLD Intellectual Property Organization. An Enriched Fraction Prepared from *Phyllanthus amarus* for treatment of Hepatitis and the Preparation Thereof. PREMILA, M.; JANARDHAN, P.; KUMARAN, A. WO 00/563.28, 28 sep. 2000.

YLIRUUSI, J.; ANTIKAINEN, O.K. New Parameters Derived from tablet Compression Curves. Part I. Force-Time Curve. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 23, n. 1, p. 69-79, 1997.

ZUCCOLOTO, T.; APEL, M.; RATES, S.M.K. Avaliação da qualidade de produtos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre – RS. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. V. 58, n. 2, p. 25-31, 1999.

**BIOGRAFIA**

---



**FORMAÇÃO ACADÊMICA**

novembro de 1991 a agosto de 1995	Graduação em Farmácia Universidade Federal do Amazonas (FUA) Manaus – Am
setembro de 1995 a dezembro de 1996	Habilitação em Bioquímica de alimentos Curso de Farmácia Universidade Federal do Amazonas (FUA) Manaus – AM
março de 1997 a setembro de 1999	Pós-Graduação nível mestrado em Tecnologia Farmacêutica no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
março de 2000 a março de 2004	Pós-Graduação nível doutorado em Tecnologia Farmacêutica no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
setembro de 2002 a março de 2003	Doutorado sanduíche no laboratório de Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Farmácia - Universidade de Santiago de Compostela, Espanha

**PRODUÇÃO CIENTÍFICA RELACIONADA AO TEMA****Painéis apresentados em Congressos**

SOUZA, T.P.; AMOZA, J.L.G.; PACHECO, R.M. PETROVICK, P.R. Granulates Products from Spray dried Extract of *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). In: International Conference on Pharmaceutical Technology and Quality Control - VII Pharmatec., 2003, **Abstracts...**, João Pessoa: Paraíba, 2003.

ABOY, A.L.; DE SOUZA, T.P.; MELLO, P.C.P.; CECHINEL FILHO, V.; YUNE, R.; HENRIQUES, A.T.; ZUANAZZI, J.A. Comparação de soluções extrativas aquosas de *Phyllanthus niruri* e *P. tenellus*. In: I Congresso Latino Americano de Fitoquímica: IV Renión de la Sociedad Latinoamericana de Fitoquímica, 2001. **Resumos...**, Buenos Aires - Argentina, 2001.

WHERMANN, L.; COUTO, A.G.; DE SOUZA, T.P.; PETROVICK, P.R. Desenvolvimento de metodologia para o controle de qualidade de produtos do ciclo tecnológico de comprimidos de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae). In: Salão de Iniciação Científica, 12 e feira 9, 2000, **Resumos...**, Porto Alegre - Rio Grande do Sul, UFRGS, 2000.

**Artigos completos**

DE SOUZA, T.P.; HOLZSCHUCH, M.H.; LIONÇO, M.I.; ORTEGA, G.G.; PETROVICK, P.R. Validation of a LC Method for the Analysis of Phenolic Compounds from Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* Aerial Parts. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 30, p. 351-356, 2002.

DE SOUZA, T.P.; LIONÇO, M.I.; PETROVICK, P.R. Avaliação cromatográfica de polifenóis presentes nas partes aéreas morfológicas de *Phyllanthus niruri*. Caderno de Farmácia, Porto Alegre, RS, v. 17, n. 2, p. 117-120, 2001.

**PARECERES**

---

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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae)"

Doutoranda: TATIANE PEREIRA DE SOUZA

PARECER

O trabalho em questão apresenta um grande volume de experimentos, executados de forma adequada e embasado em referências atuais e pertinentes.

Os resultados obtidos foram discutidos profundamente e permitem a produção de uma forma farmacêutica viável e com potencial aplicação.

Tanto a apresentação oral quanto a dissertação estão organizadas de forma coerente e clara, permitindo o acompanhamento da sequência do trabalho.

Há pequenas sugestões de alterações que serão entregues à doutoranda que, no entanto, não tiram o mérito do trabalho.

Sendo assim, sou de parecer favorável à concessão do título de Doutor.

Data: 25/03/2004

  
Prof. Dr. AIRTON MONZA DA SILVEIRA  
FEPPS-FUND. EST. PRODUÇÃO E PESQUISA EM SAÚDE

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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae)"

Doutoranda: TATIANE PEREIRA DE SOUZA

PARECER

O trabalho apresentado nesta tese é completo, apresentado de forma organizada, e os resultados são importantes e foram analisados de forma apropriada. O trabalho experimental foi bem conduzido e a metodologia está adequada aos objetivos propostos. Sou de parecer favorável a aprovação da tese.

Data: 25.03.04

Grace Gosmann

Profa. Dra. GRACE GOSMANN  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "*Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de Phyllanthus niruri L. (Euphorbiaceae)*"

Doutoranda: TATIANE PEREIRA DE SOUZA

PARECER

O trabalho apresentado pela doutoranda TATIANE P. DE SOUZA e intitulado "*Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de Phyllanthus niruri L. (Euphorbiaceae)*"; teve como objetivo principal viabilizar uma forma farmacêutica sólida por compressão, contendo elevado teor de produto seco por aspersão de *P. niruri*. Para tanto, além da preparação e caracterização de produto seco, foram estudadas e propostas alternativas tecnológicas tais como: granulação por via úmida ou seca, com o intuito de incrementar suas propriedades de compressibilidade e estabilidade. O produto seco, os granulados (por via seca ou úmida), e comprimidos; foram sistemática e comparativamente estudados, empregando ensaios oficiais e explorando diversas ferramentas estatísticas, o que conferiu confiabilidade aos resultados encontrados. Conseqüentemente, a discussão pôde ser realizada com maior grau de segurança e em nível de aprofundamento compatível. Portanto, ficou nítido o rigor científico com que a candidata conduziu os experimentos e a forma como os discutiu. O volume de trabalho executado, foi satisfatoriamente traduzido no número e no estilo das publicações propostas, revelando o grau de amadurecimento da candidata. Diante do exposto, meu parecer é favorável à concessão do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas almejado pela candidata.

Data: 25/03/2003



Prof. Dr. LUIZ ALBERTO LIRA SOARES

Universidade Federal do Rio Grande do Norte

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

Área de concentração:

PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MEDICAMENTOS

Título: "Desenvolvimento tecnológico e otimização de formas farmacêuticas sólidas contendo alto teor de produto seco por aspersão de *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae)"

Doutoranda: TATIANE PEREIRA DE SOUZA

PARECER

Trata-se de trabalho relevante para a área de desenvolvimento de produtos fitofármacos. Aponta conhecidamente novo e de indubitável consistência científica para a espécie *Phyllanthus niruri* L. (Euphorbiaceae) a qual apresenta potencial terapêutico evidente. Sou de parecer favorável à concessão do título de Doutora a Tatiane Pereira de Souza pelo Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da nossa Universidade.

Data: 25 de Março de 2004

Profa. Dra. VALQUIRIA LINCK BASSANI

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

IMPRESSÃO

