UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

ALEXANDRE DE ALMEIDA LOPES SEVERO

Validação de método analítico, otimização de processo de extração e avaliação da adsorção de resinas e argilas para extrato de *Cassia angustifolia* Vahl

RECIFE
2013

ALEXANDRE DE ALMEIDA LOPES SEVERO

Validação de método analítico, otimização de processo de extração e avaliação da adsorção de resinas e argilas para extrato de *Cassia angustifolia* Vahl

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para a obtenção do Título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE
2013

Catalogação na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Severo, Alexandre de Almeida
Validação de método analítico, otimização de processo de extração e avaliação da adsorção de resinas e argilas para extrato de *Cassia angustifolia* Vahl/ Alexandre de Almeida Severo– Recife: O Autor, 2013.

119 folhas : il., fig., tab.
Orientador: Pedro José Rolim Neto
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Inovação Terapêutica, 2013.
Inclui bibliografia, Apêndices e anexos

1. Plantas medicinais 2. *Senna Alexandrina* 3. Arbustos I. Rolim Neto, Pedro José (orientador) II. Título

615.321 CDD (22.ed.) UFPE/CCB- 2013- 061

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof[a]. Dr[a]. Maria Eduarda Lacerda de Larrazábal da Silva

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof[a]. Dr[a]. Oliane Maria Correia Magalhães

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof[a]. Dr. Cesar Augusto Souza de Andrade

VICE- COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Prof[a]. Dr. Luiz Alberto de Lira Soares

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

Recife, ___ de _____ de 2013.

Título: Validação de método analítico, otimização de processo de extração e avaliação da adsorção de resinas e argilas para extrato de *Cassia angustifolia* Vahl.

Dissertação de Mestrado defendida em ____ de _____ de 2013, cuja banca examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

Resultado:
( ) Aprovado ( ) reprovado ( ) outro: _____

Obs.:_____
_____

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto
(Departamento de Ciências Farmacêutica da Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura:_____

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho –
Programa de Pós – Graduação em Inovação Terapêutica – UFPE

Assinatura:_____

EXAMINADOR EXTERNO: Profª. Drª. Flávia P. Morais de Medeiros (Faculdade Pernambucana de Saúde).

Assinatura:_____

Dedico este trabalho aos meus pais, José Severo e Dilma Lopes, pelo amor e apoio em todos os momentos desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Pedro Rolim**, a quem tenho profundo respeito não só pelo trabalho, mas pela pessoa e amigo. Serei sempre grato pela oportunidade!

Ao meu pai, **José Severo**, pelos ensinamentos que, de alguma forma, me instigaram a buscar sempre novos desafios. Obrigado!

À minha mãe, **Dilma Lopes**, pelo amor incondicional e pelos esforços desprendidos para a formação dos filhos. Mãe, muito obrigado!

A toda minha família, em especial aos meus irmãos, **José Severo Neto** e **Andréia Maria de Almeida Lopes Severo**, pelo apoio e amizade durante esta jornada.

A **Universidade Federal de Pernambuco** e ao **Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica**, que tem acolhido tão bem todos nós pós-graduandos que acreditam em um país melhor por meio da pesquisa.

Ao **Laboratório Lapon Química e Natural Ltda**, pela enorme contribuição nas etapas de validação do método analítico, de otimização do extrato e nos estudos de adsorção, especialmente ao técnico e futuro químico industrial **Thiago Pessoa**.

Ao **Laboratório de Tecnologia de Medicamentos – LTM** e a **todos os seus integrantes** pela oportunidade da aprendizagem diária, sempre com muita paciência e bom humor.

A **todos** que de forma direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Cassia angustifolia Vahl é um arbusto amplamente cultivado na Índia e largamente utilizado como laxativo na constipação aguda e em casos em que a defecação com fezes moles é aconselhável, sendo empregado em formulações como pós, xaropes, comprimidos e cápsulas. Algumas destas formulações são preparadas à partir de derivados do extrato fluido, o que torna fundamental para a qualidade e eficácia destas que este tenha seu processo de extração otimizado bem como o método analítico validado. Outras destas formulações, devido a limitações de tamanho e posologia precisam ser preparadas à partir de produtos concentrados em ativos através de processos como a adsorção. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo validar método analítico para quantificação de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B no extrato fluido; otimizar a extração das folhas de *Cassia angustifolia* Vahl; e avaliar diversas resinas e argilas como potenciais adsorventes em processos tecnológicos para obtenção de produtos farmacêuticos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos. O método analítico por espectrofotometria no visível foi validado para os parâmetros seletividade, linearidade ($y = 0,815x + 0,0015$; $r^2 = 0,9997$), precisão, exatidão e robustez, onde todos os resultados atenderam às especificações da RE n° 899/2003 da ANVISA. O estudo de otimização da extração encontrou, empregando planejamento fatorial e metodologia de análise de superfície de resposta, as melhores condições de processo (decocção com agitação + 15 g de *C. angustifolia* Vahl + etanol 60%). O estudo dos adsorventes indicou as resinas como os melhores adsorventes frente às argilas. A avaliação dos parâmetros termodinâmicos para as resinas estudadas demonstrou que o processo de adsorção é espontâneo (ΔG -), de natureza física ($8 \text{ kJ mol}^{-1} < \Delta H < 25 \text{ kJ mol}^{-1}$) e favorável ($0 < Kr < 1$) para adsorver os derivados hidroxiantracênicos em uma monocamada (ajustado ao modelo de Langmuir, com todos os $r^2 \geq 0,9657$), de modo que se pode concluir que estas são potenciais adsorventes em processos tecnológicos para a obtenção de produtos farmacêuticos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos.

Palavras-chave: *Cassia angustifolia*, Validação, Otimização de extração, Adsorção.

ABSTRACT

Cassia angustifolia Vahl is a bush cultivated widely in India and is widely used as a laxative in acute constipation and in cases where the defecation with soft stool is desirable, being employed in formulations such as powders, syrups, tablets and capsules. Some of these formulations are prepared starting from derivatives of fluid extract, which makes it crucial to the quality and effectiveness of this extraction process has its optimized and validated analytical method. Other such formulations due to limitations of size and dose must be prepared from concentrates active products by processes such as adsorption. Given the above, the present study aimed to validate analytical method for quantification of derivatives hidroxiantracênicos senosídeos B in the fluid extract; optimize the extraction of the leaves of Cassia angustifolia Vahl, and evaluate various resins and clays as potential adsorbents in technological processes for obtaining pharmaceutical products with a high content of derivatives hidroxiantracênicos. The analytical method for visible spectrophotometry was validated for the parameters selectivity, linearity ($y = 0,815x + 0,0015$; $r^2 = 0,9997$), precision, accuracy and robustness, where all results met the specifications of REn° 899/2003 of ANVISA. The optimization study found extraction, using factorial design and methodology of response surface analysis, the best process conditions (agitation + decoction with 15 g of *C. angustifolia* Vahl + ethanol 60%). The study of adsorbent resins indicated as the best adsorbents. The evaluation of the thermodynamic parameters demonstrated that the adsorption process is spontaneous (ΔG -), physical in nature (8 kJ mol^{-1} < ΔH < 25 kJ mol^{-1}) and favorable ($0 < Kr < 1$) to adsorb derivatives hidroxiantracênicos in a monolayer (adjusted to the Langmuir model with all $r^2 \geq 0,9657$). Thus, we can conclude that these are potential adsorbents in technological processes for obtaining pharmaceutical products with a high content of derivatives hidroxiantracênicos.

Keywords: *Senna alexandrina*, Validation, Optimization extraction, Adsorption.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Fluxograma do procedimento analítico para a quantificação de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B no extrato. 46
Figura 2 – Fluxograma do procedimento de preparação das amostras para linearidade e intervalo. 49
Figura 3 - Estrutura química da Amberlite XAD7HP. 56
Figura 4 - Estrutura química da Amberlite XAD 1180N. 58
Figura 5- Identificação da *Cassia angustifolia* por CCD 65
Figura 6 - Linearidade do método verificando a regressão das três curvas 68
Figura 7 - Gráfico dos resíduos da absorvância (515 nm). 68
Figura 8 - Probabilidade normal e gráfico de Pareto para a resposta SB. 78
Figura 9 - Probabilidade normal e gráfico de Pareto para a resposta RS. 79
Figura 10 - Superfície de resposta e curvas de contorno para senosídeos B (SB) 82
Figura 11- Superfície de resposta e curvas de contorno para resíduo seco (RS) 84
Figura 12 - Gráfico do estudo do tempo de agitação no processo de adsorção. 87
Figura 13 - Gráficos de Pareto dos efeitos padronizados para cada adsorvente 90
Figura 14 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 7HP 92
Figura 15 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 761 92
Figura 16 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 1180N 92
Figura 17 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 7HP 94
Figura 18 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 761 95
Figura 19 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 1180N 95

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Principais terapias medicamentosas para a constipação. 23
Quadro 2 - Principais terapias não medicamentosas para a constipação.....24
Quadro 3- Principais constituintes fitoquímicos da *C. angustifolia*.....26
Quadro 4 - Principais atividades farmacológicas da *C. angustifolia*.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Principais características da adsorção física e química 33
Tabela 2 - Fator K_R e os tipos de isotermas 35
Tabela 3 - Características da argila Tonsil terrana 580 FF 54
Tabela 4 - Características da argila Tonsil supreme 182FF 54
Tabela 5 - Características da argila Tonsil supreme 180FF 55
Tabela 6 - Propriedades físicas da Amberlite XAD7HP 56
Tabela 7 - Propriedades físicas da Amberlite XAD761 57
Tabela 8 - Propriedades físicas da Amberlite XAD 1180N 58
Tabela 9 - Resultados da caracterização do material vegetal (folhas de *C. angustifolia*) 65
Tabela 10 – Resultados da seletividade do método 66
Tabela 11 - Dados da curva média de calibração para determinação da linearidade do método. 67
Tabela 12 - Resultados da repetibilidade. 69
Tabela 13 - Resultados da precisão intermediária entre dias realizada por analistas diferentes. 70
Tabela 14 - Avaliação da precisão intermediária do analista 1 em diferentes dias de acordo com ANOVA. 70
Tabela 15 Avaliação da precisão intermediária do analista 2 em diferentes dias de acordo com ANOVA. 71
Tabela 16 Avaliação da precisão intermediária entre analistas no primeiro dia de acordo com ANOVA. 71
Tabela 17 Avaliação da precisão intermediária entre analistas no segundo dia de acordo com ANOVA. 71
Tabela 18 - Resultados da exatidão do método. 72
Tabela 19 Determinação dos resultados estatísticos. 73
Tabela 20 Avaliação da robustez variando o tempo de aquecimento com refluxo. 74
Tabela 21 Avaliação da robustez variando a temperatura do ambiente. 74
Tabela 22 Avaliação da robustez variando o tempo para a separação da camada etérea. 75
Tabela 23 Avaliação da robustez variando os fabricantes de metanol 76
Tabela 24 Planejamento fatorial completo 2^3 com pontos centrais. 77
Tabela 25- Análise de superfície de resposta 81
Tabela 26- Análise de regressão da superfície de resposta para senosídeos B (SB). 83
Tabela 27 - Análise de regressão da superfície de resposta para resíduo seco (RS). 85
Tabela 28 - Resultados do estudo da lavagem das resinas poliméricas. 86
Tabela 29 - Resultados do planejamento fatorial para os adsorventes 88
Tabela 30 - Efeitos principais e secundários 89
Tabela 31 - Melhores combinações de níveis dos fatores no processo de adsorção 91
Tabela 32 - Parâmetros das isotermas de Langmuir para a adsorção de derivados hidroxiantracênicos em diferentes temperaturas. 93

Tabela 33 - Parâmetros das isotermas de Freundlich para a adsorção de derivados hidroxiantracênicos em diferentes temperaturas. 94
Tabela 34 - Parâmetros termodinâmicos para a adsorção das resinas poliméricas 96

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 15
2. OBJETIVOS 18
2.1 OBJETIVO GERAL 19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 19
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 20
3.1 CONSTIPAÇÃO: UMA BREVE ABORDAGEM 21
3.2 ESTADO DA ARTE DE *Cassia angustifolia* Vahl 24
3.2.1 Aspectos botânicos da espécie 25
3.2.2 Fitoquímica 26
3.2.3 Farmacologia 27
3.2.4 Toxicologia 29
3.3 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS 31
3.4 PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS 32
3.5 PROCESSOS DE ADSORÇÃO 33
3.5.1 Modelo de Langmuir 34
3.5.2 Modelo de Freundlich 35
3.5.3 Termodinâmica do processo de adsorção 36
3.6 RESINAS POLIMÉRICAS 37
3.7 ARGILAS 37
4 MATERIAL E MÉTODOS 38
4.1 MATERIAL VEGETAL 39
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL 39
4.2.1 Análise granulométrica 39
4.2.2 Determinação de água 40
4.2.3 Identificação das amostras 40
4.2.4 Determinação do teor de derivados hidroxiantracênicos 41
4.3 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DERIVADOS HIDROXIANTRACÊNICOS EM SENOSÍDEOS B NO EXTRATO. 42
4.3.1 Reagentes e vidrarias 42
4.3.2 Equipamentos 43
4.3.3 Preparação das soluções 43
4.3.4 Seletividade 44
4.3.5 Linearidade e intervalo 47

4.3.6 Precisão 49
4.3.7 Exatidão 50
4.3.8 Robustez 51
4.4 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXTRATIVAS POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS 51
4.4.1 Planejamento experimental 51
4.4.2 Preparação dos extratos 52
4.4.3 Avaliação das respostas 52
4.5 ESTUDOS DE ADSORÇÃO 53
4.5.1 Meios adsorventes 53
4.5.2 Lavagem das resinas poliméricas 59
4.5.3 Ensaios de adsorção 60
4.5.4 Estudo do tempo de contato 60
4.5.5 Estudo de planejamento fatorial do processo de adsorção 60
4.5.6 Isotermas de adsorção 61
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO 63
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL 64
5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO 66
5.2.1 Seletividade 66
5.2.2 Linearidade e intervalo 66
5.2.3 Precisão 69
5.2.4 Exatidão 72
5.2.5 Robustez 73
5.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXTRATIVAS POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS 76
5.4 ESTUDOS DE ADSORÇÃO 86
5.4.1 Lavagem das resinas poliméricas 86
5.4.2 Estudo do tempo de contato 87
5.4.3 Estudo dos fatores do processo de adsorção 87
5.4.4 Estudos termodinâmicos do processo de adsorção 91
6. CONCLUSÃO 98
7. PERSPECTIVAS 100
REFERÊNCIAS 102
APÊNDICES 111

ANEXO.....117

1 Introdução

1. INTRODUÇÃO

Cassia angustifolia Vahl é um arbusto alto, originário da Arábia, e também conhecido juntamente com outras espécies do gênero *Cassia* como sene (WALTENBERG *et al*, 2008). Atualmente, é produzida em larga escala na Índia, especialmente nos distritos de Tinnevelly, Madurai e Tiruchirapally, sendo largamente utilizada como laxativo na constipação intestinal aguda e em casos em que a defecação com fezes moles é aconselhável, como após intervenção cirúrgica no reto ou na área anal e antes ou depois de operação abdominal (WICHTL, 2004).

Adicionalmente, o uso na constipação tem sua relevância destacada na medida em que este é um problema muito comum em todo mundo, com prevalência média de 16%, e só nos Estudos Unidos responde por mais de 2,5 milhões de visitas médicas por ano, contribuindo significativamente para a carga financeira do sistema de saúde (MUGIE; BENNINGA; DI LORENZO, 2011). No Brasil, não existem dados publicados de prevalência na população geral, no entanto, estudos no sul do país indicam uma prevalência de cerca de 15% na população masculina e 35% na feminina (COLLET; ARAÚJO; MADRUGA, 2010).

Entre os constituintes da folha da *Cassia angustifolia*, os derivados hidroxiantracênicos (diantronas), presentes como glicosídeos (senosídeos) são relatados como os compostos de importância na atividade (ESCOPE, 2003). Os glicosídeos hidroxiantracênicos calculados como senosídeo B representam não menos que 2,5% do peso da droga. A droga também contém cerca de 2-3% de mucilagem, flavonóide (particularmente derivados do kaempferol), glicosídeos naftalênicos, principalmente tinevelina glicosídeo e hidroximusicina glicosídeo, assim como óleo essencial consistindo principalmente em monoterpenos e sesquiterpenos, fenil propanonas e ácido palmítico (WICHTL, 2004).

O efeito laxativo das preparações de *Cassia angustifolia* é principalmente mediados pela reinantrona, um metabólito formado na flora intestinal à partir das diantronas (WALTENBERG *et al*. 2008). As diantronas passam através do trato gastrointestinal superior quase inalteradas e alcançam o ceco e o colo onde são transformadas em reinantrona, que provavelmente por intermédio do óxido nítrico, ativam o peristaltismo do colo, resultando nos efeitos laxativos (KRUMBIEGEL; SCHULZ, 1993; RAIMONDI *et al*., 2002).

A *Cassia angustifolia* Vahl, portanto, pode ser extensivamente empregada em formulações farmacêuticas, como pós, xaropes, comprimidos e cápsulas (CHAUBEY; VIRENDRA, 2001). No entanto, algumas destas formulações são preparadas à partir de

derivados do extrato fluido, que infelizmente, na prática, conforme está descrito nos compêndios é de difícil preparação, necessitando de uma grande quantidade de solvente e de etapas de evaporação, e nem sempre atinge as especificações requeridas, como uma boa relação entre o teor de senosídeos e o resíduo seco. Isto torna fundamental para a qualidade e eficácia destas formulações que este extrato fluido tenha seu processo de extração otimizado bem como o método analítico validado. Outras destas formulações, porém, devido a limitações de tamanho e posologia e à baixa quantidade de derivados hidroxiantracênicos contidos no vegetal (BRASIL, 2010), precisam ser preparadas à partir de produtos ainda mais concentrados em ativos, através de processos como a adsorção.

O processo de adsorção envolve o contato entre um sólido e um fluido, originando uma transferência de massa da fase fluida para superfície do sólido e pode ser utilizados para a obtenção de produtos concentrados em um determinado ativo. O soluto não se difunde no sólido, mas sim fica retido na superfície e/ou nos poros do mesmo como conseqüência de interações microscópicas com as partículas constitutivas do sólido (RUTHVEN, 1997). São incontáveis os materiais que podem ser utilizados em processos de adsorção, dentre estes, resinas poliméricas estão sendo aplicadas com grande intensidade para remover substâncias orgânicas e recuperar compostos (KYRIALOPOULOS *et al*., 2005), e as argilas também vêm sedo bastante utilizadas por apresentar grande capacidade de adsorção e uma alta área superficial (MURRAY, 2000).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo validar método analítico para quantificação de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B no extrato fluido; otimizar a extração das folhas de *Cassia angustifolia* Vahl; e avaliar diversas resinas e argilas como potenciais adsorventes em processos tecnológicos para obtenção de produtos farmacêuticos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos, visando a melhoria e padronização destes processos, que servirão de base para o desenvolvimento de medicamentos à base de *Cassia angustifolia* com qualidade, segurança e eficácia.

2 Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar resinas e argilas como potenciais adsorventes em processos de obtenção de derivados hidroxiantracênicos à partir de extratos de *Cassia angustifolia* previamente otimizados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Validar método de doseamento de derivados hidroxiantracênicos por espectrofotometria no visível, segundo a RE n° 899/2003 (ANVISA).
- Caracterizar o material vegetal utilizado, usando metodologia padronizada pela Farmacopéia Brasileira (2010);
- Otimizar o processo de extração da folha da *Cassia angustifolia* empregando planejamento fatorial 2^3 (três fatores e dois níveis), visando a melhoria e padronização do processo.
- Avaliar resinas poliméricas e argilas como adsorventes de derivados hidroxiantracênicos em extratos de *Cassia angustifolia*.

3 Revisão Bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 CONSTIPAÇÃO: UMA BREVE ABORDAGEM

A constipação é caracterizada pela dificuldade de passagem das fezes, sensação de evacuação retal incompleta e por ser muito comum na comunidade em geral (CHOUNG *et al*, 2012). Podem ocorrer devido a fatores orgânicos, como obstrução mecânica, lesão medular, acidente vascular cerebral, mal de Parkinson, hipotiroidismo, diabetes e desordens neurogênicas locais, mas a maioria dos casos são atribuídos a distúrbios funcionais sem uma causa estrutural adjacente que poderia explicar os sintomas (PEPPAS *et al*, 2008).

A taxa de prevalência da constipação na população mundial em geral varia entre 0,7% e 79%, com média de 16%. Em crianças, a taxa de prevalência varia entre 0,7% e 29,6%, com média de 12%. No gênero feminino, o aumento da idade, o nível socioeconômico e educacional parece afetar a prevalência da constipação (MUGIE; BENNINGA; DI LORENZO, 2011).

Estudos na população geral da Europa e da Oceania encontraram uma prevalência média de 17,1% para a população européia e de 15,3% para a população da Oceania, sendo que em Sydney, na Austrália, a taxa de prevalência chegou a 30,7% (PEPPAS *et al*, 2008). Uma revisão sistemática de estudos na epidemiologia da constipação na América do Norte encontrou várias taxas de prevalência entre 1,9%, a mais baixa, e 27,2%, a mais alta. Porém, muitos dos estudos incluídos, reportaram taxas entre 12% e 19% (HIGGINS; JOHANSON, 2004).

Na China, um estudo realizado com 16078 chineses adultos concluiu que a prevalência da constipação neste país é substancialmente menor quando comparada a países ocidentais, ficando em uma taxa de 6% para os homens e sendo mais prevalente nas mulheres, com uma taxa de 8% (ZHAO *et al*, 2011).

No Brasil, não existem dados publicados de prevalência na população geral, no entanto, estudos no sul do país indicam uma prevalência de cerca de 15% na população masculina e 35% na feminina (COLLET; ARAÚJO; MADRUGA, 2010). Estudos sobre a prevalência da constipação em crianças em idade escolar no Brasil encontraram uma taxa de prevalência de 28%, sem diferença significante entre os sexos (SANT'ANNA *et al*, 1999).

Um dado importante da relevância deste problema é que só nos Estados Unidos a constipação responde por mais de 2,5 milhões de visitas médicas por ano, contribuindo significativamente para a carga financeira do sistema de saúde (MUGIE; BENNINGA; DI LORENZO, 2011). Também, as altas taxas de prevalência e as implicações sobre a qualidade de vida e o estado de saúde, fazem da constipação um dos maiores problema público de saúde nos Estados Unidos (PEPPAS *et al*, 2008).

Quanto a etiologia da constipação, em um comunicado de 2005, especialistas americanos listaram como as principais causas da constipação: uma dieta pobre, ingestão insuficiente de líquido, maus hábitos intestinais, falta de exercício, abuso de laxantes, viagens, repouso prolongado no leito, medicamentos e desequilíbrios hormonais (GERIATRICS, 2005).

A constipação em mulheres também pode ser causada por uma regulação negativa no nível das proteínas contráteis G e por um aumento da regulação de proteínas inibidores da proteína G, provavelmente causada por uma super expressão dos receptores de progesterona em células do músculo circular do cólon (XIAO *et al*, 2005). Mais estudos ainda são necessários para se determinar a real implicação de cada um dos fatores: consumo insuficiente de fibras, ingestão inadequada de líquidos, atividade física reduzida, efeitos colaterais de medicamentos, hipotiroidismo, hormônios sexuais ou obstrução por câncer, como fatores etiológicos principais no desenvolvimento de constipação (LEUNG, 2007).

O tratamento da constipação pode ser através de terapias farmacológicas e não farmacológicas, que geralmente envolvem modificações na dieta e exercícios físicos. O objetivo do tratamento não farmacológico com ingestão aumentada de fibra é o aumento da extração de água para dentro do lúmen do intestino, aumentando assim o peso e o conteúdo de água nas fezes, embora este tratamento não tenha o mesmo efeito em todos os pacientes, pode ser melhor indicado para aqueles pacientes que estão internados, imóveis ou que recebem medicamentos que provocam constipação. O aumento da ingestão de líquido como tratamento por si só não tem sido indicado, mas pode beneficiar pacientes que estão desidratados e ajudar a prevenir a obstrução gastrointestinal naqueles que tomam agentes expansores. A atividade física pode ser um tratamento benéfico como parte de um programa total de gestão do intestino (FLEMING; WADE, 2010).

Além dos fármacos ministrados por via oral, enemas e supositórios ministrados por via retal também são usados, normalmente em situação de emergência. São geralmente considerados seguros, mas têm o potencial de gerar efeitos adversos, principalmente

distúrbios eletrolíticos, além de que são de difícil administração em pacientes com comprometimento cognitivo ou demência (FLEMING; WADE, 2010).

Quadro 1- Principais terapias medicamentosas para a constipação.

TERAPIAS MEDICAMENTOSAS			
CATEGORIA	**EXEMPLOS**	**MECANISMO**	**CONSIDERAÇÕES**
Agentes osmóticos	- Laxativos salinos: sulfato de magnésio, hidróxido de magnésio, fosfato de sódio. -Açúcares e álcoóis não-digeríveis: lactulose, sorbitol, manitol. - Polietilenoglicol	Retenção hídrica mediada por osmose, que estimula o peristaltismo.	- Os laxativos salinos possuem sabor ruim e pacientes com problemas renais não devem utilizá-los. -Os açúcares e alcoóis não-digeríveis podem causar desconforto ou distensão abdominal e flatulência nos primeiros dias de tratamento. - O polietilenoglicol é utilizado em associação com os salinos para evitar a transferência total de íons através da parede intestinal.
Hidratantes e emolientes fecais	Sais de docusato Ex: docusato de sódio, docusato de cálcio.	Surfactantes aniônicos que reduzem a tensão superficial das fezes de modo a permitir a mistura de substâncias aquosas e gordurosas, o que amolece as fezes e facilita a defecação	- Têm pouca eficácia na maioria dos casos de prisão de ventre.
Laxativos estimulantes	-Derivados do difenilmetano, Ex.: bisacodil, fenolftaleína; -Picossulfato de sódio; - Sene, *Cascara sagrada*.	Ativação das vias do óxido nítrico/ GMP cíclico e prostaglandinas/ AMP.	-São os mais utilizados.
Agonista seletivo do receptor da serotonina-4 (5-HT_4)	- Tegaserod: maleato de tegaserod (Zelmac®); - Prucaloprida	Estimula o reflexo peristáltico via neurônios aferentes intrínsecos na mucosa grastrointestinal. Isto aumenta o conteúdo de fluido do cólon como um resultado da liberação de íons cloreto.	- Tegaserod: ainda necessita de avaliação de longo prazo (risco de eventos adversos cardiovasculares); - Prucaloprida: mais seletivo que o tegaserod (menos efeitos cardiovasculares).

Fontes: Pers (1983); Grider *et al* (1998); Jin *et al* (1999); Attar *et al* (1999); Johanson (2004); Kamm (2005); Brieje; Bosmans; Van Daele (2001); Fleming; Wade (2010).

Quadro 2 - Principais terapias não medicamentosas para a constipação.

TERAPIAS NÃO MEDICAMENTOSAS		
TERAPIA	**EFEITO**	**RESULTADO**
Ingestão aumentada de fibras	Aumento da extração de água para dentro do lúmen do intestino, aumentando assim o peso e o conteúdo de água nas fezes	Não tem o mesmo efeito em todos os pacientes. Melhor indicada para aqueles pacientes que estão internados, imóveis ou que recebem medicamentos que provocam constipação.
Aumento da ingestão de líquido	Aumento do volume de líquido no lúmen	Por si só não tem muito efeito.
Fibras de *Psyllium*	Aumentar a frequência das evacuações, o peso e por reduzir a consistência das fezes	Associado a outros agentes tem demonstrado algum efeito.
Atividade física	Aumento de mediadores que aumentam os movimento peristálticos.	Pode ser um tratamento benéfico como parte de um programa total de gestão do intestino.

Fonte: Fleming; Wade (2010)

3.2 ESTADO DA ARTE DE *Cassia angustifolia* Vahl

Cassia é um dos maiores gêneros da família *Fabaceae* constituído por mais de 600 espécies incluindo árvores, arbustos e ervas, distribuídas em regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo. No Brasil, particularmente na Mata Atlântica, o gênero *Cassia* é muito comum, sendo algumas espécies muito utilizadas como plantas ornamentais devido à beleza de suas flores (VIEGAS *et al*, 2006).

Segundo Viegas (2006), recentes revisões na classificação botânica dos gêneros *Cassia* e *Senna* levaram à transposição taxonômica de espécies do gênero *Cassia* para o táxon *Senna*. Com a separação das leguminosas em três grupos distintos (subfamílias *Caesalpiniaceae*, *Mimosaceae* e *Papilionaceae*), o gênero *Cassia*, agora incluído em *Fabaceae* (*Leguminosae*), diminuiu em tamanho; estudos de morfologia floral sustentam a classificação inalterada de muitas espécies, muito embora várias *Cassias* ainda continuem sendo descritas como sinonímias de sennas.

De acordo com a Associação Americana de Produtores de Ervas (AAPE), as espécies *Cassia angustifolia* Vahl, e *Cassia senna* L. ou *Cassia acutifolia* Dellile, podem ser agrupadas

em uma única classificação, *Senna alexandrina* Mill, comumente chamada de sene (WICHTL, 2004).

A USP (2012) e a Farmacopéia Européia classificam a *Senna alexandrina* Mill como sinônimo de *Cassia angustifolia* Vahl ou *Cassia acutifolia* Dellile. Segundo a Farmacopéia Portuguesa 9ª edição (2010) a *Cassia senna* L. *(C. acutifolia* Delile), também é conhecida pelo nome de sene de Alexandria ou de Cartum, e a *Cassia angustifolia* Vahl é conhecida pelo nome de sene Tinnevelly ou da Índia. A Farmacopéia Brasileira 5ª ed (2010) descreve a *Senna alexandrina* Mill como a espécie fonte da droga vegetal Sene folha, em sua monografia.

A *Cassia angustifolia* é originalmente da Arábia, no entanto, é cultivada em larga escala na Índia, especialmente nos distritos de Tinnevelly, Madurai e Tiruchirapally; já a *Cassia senna* é nativa do norte e nordeste da África e cultivada no vale do Nilo (WICHTL, 2004).

Esta planta foi, primeiramente, usada medicinalmente por médicos árabes até o século IX A.C e tem um longo histórico de uso na medicina tradicional árabe e européia, principalmente como catártico. As folhas têm sido cultivadas e o chá administrado por seu forte efeito laxativo (DERMARDEROSIAN, 2008).

3.2.1 Aspectos botânicos da espécie

Quanto à descrição botânica, a *C. angustifolia* é um arbusto com cerca de 1 a 1,5 m de altura, com numerosas inflorescências racemosas amarelas, com flores zigomorfas pequenas com cerca de 3 cm, o fruto (vagem) é plano, com a impressão das sementes claramente visível na casca, as folhas são paripinuladas, com folíolos ovado-lanceolado, os folíolos têm ápice agudo, obtuso, raro retuso ou retuso-mucronado e base aguda a obtusa, assimétrica, margem levemente revoluta, cartáceos, quebradiços, verde claro, com face abaxial mais clara, de 0,6 cm a 5,0 cm de comprimento e 0,2 cm a 1,0 cm de largura, lâmina pilosa em ambas as faces, tricomas tectores cônicos, geniculados, em maior quantidade na face abaxial; venação camptódroma-broquidódroma, as nervuras de maior ordem chegando até a margem e a nervura principal proeminente na face abaxial, peciólulo curto, normalmente curvo para a face abaxial, com até 0,1 cm de comprimento e até 0,1 cm de largura; face adaxial cilíndrica ou

côncava, com duas costelas laterais, face abaxial convexa; tricomas iguais aos da lâmina, antrorsos (WICHTL, 2004; FARM. BRAS. 5ª Ed, 2010).

3.2.2 Fitoquímica

A fitoquímica do gênero *Cassia* tem sido extensivamente estudada, principalmente em cerca de 30 espécies que vêm sendo relatadas como fontes ricas de derivados fenólicos, antracênicos e antraquinônicos, descritos como as substâncias responsáveis pela atividade de várias espécies deste gênero. Diversos estudos descrevem espécies de *Cassia* quanto às suas indicações como laxativo, sendo que alguns estudos fitoquímicos e farmacológicos com algumas espécies comprovaram também propriedades antibacterianas, antifúngicas, hepatoprotetoras e antimaláricas (VIEGAS, 2006). O quadro 3 resume os principais constituintes fitoquímicos da *C. angustifolia*.

Quadro 3- Principais constituintes fitoquímicos da *C. angustifolia*.

CONSTITUINTE FITOQUÍMICO	REFERÊNCIA
Derivados antraquinônicos: principalmente glicosídeos diantrônicos (1,5% a 3%), senosideos A e B (reindiantronas), senosideos C e D (reinaloe-emodina heterodiantronas). Outros senosídeos em menor quantidade.	Dermarderosian (2008)
Antraquinonas livres em pequena quantidade incluindo reina, aloe-emodina crisofanol e outros glicosídeos.	Dermarderosian (2008)
Carboidratos: galactose, arabinose, raminose, manose, frutose, glicose, pinitol e sacarose; galactomananas.	Chaubey; Viendra (2001)
Óleo essencial (~0,05%): constituído de mono e sesquiterpenos, fenilpropanos, ácido palmitico e outros.	Schultze *et al* (1996)
Flavonóides: isorhamnetin, kaempferol, epi-catechin, vidalenolona.	Langhari *et al* (2011)
Outros: saponinas, mentol, anetol, quercetina, acido crisofanico, acido salicílico.	Khan; Sirivastava (2009); Schultze *et al* (1996); Dermarderosian (2008).

3.2.3 Farmacologia

C. angustifolia é um potente laxativo, que tem seu uso no tratamento da constipação bem documentado, sendo um dos mais populares laxativos, principalmente em idosos (DERMARDEROSIAN, 2008). Outros efeitos como a atividade hepatoprotetora (SHANMUGASUNDARAM *et al*, 2010), a atividade antioxidante (LAGHARI *et al*, 2011), a atividade antifúngica (KHAN; SRIVASTAVA, 2009) e a atividade antidiabética (SWANSTON *et al*, 1989) vêm sendo estudados.

- Atividade laxativa

O efeito laxativo das preparações de *Cassia angustifolia* parece ser principalmente mediados pela reinantrona, um metabólito formado na flora intestinal à partir das diantronas (WALTENBERG *et al*. 2008). As diantronas passam através do trato gastrointestinal superior quase inalteradas e alcançam o ceco e o colo onde são transformadas em reinantrona, que provavelmente por intermédio do óxido nítrico, ativam o peristaltismo do colo, resultando nos efeitos laxativos (KRUMBIEGEL; SCHULZ, 1993; RAIMONDI *et al*., 2002). A reinantrona e outras antraquinonas após serem metabolizadas pela flora intestinal, são absorvidas e sofrem principalmente conjugação com o ácido glicurônico ou transformação a derivados sulfatados que são excretados na urina e na bile (de WITTE; LEMLI, 1990).

Beubler *et al* (1988) estudaram se as prostaglandinas também estariam envolvidas na mediação dos efeitos dos senosídeos em induzir a secreção de fluido e de eletrólitos no cólon e verificaram que os extratos de sene foram capaz de inibir a absorção de água, sódio e cloreto e aumentar a secreção de potássio, além de estimular a liberação de PGE_2 (prostaglandina E_2), no lúmen do cólon. Eles mostraram ainda que a inibição da biossíntese das protaglandinas por indometacina inibi de maneira dose-dependente os efeitos do sene, e que portanto os senosídeos exercem sua ação laxante, pelo menos parcialmente, através da secreção de fluído e eletrólitos no cólon mediada por estimulação da formação endógena de PGE_2. Além dos efeitos mediados pelo óxido nítrico e pelas prostaglandinas, a histamina liberada pela

presença de reina e reinantrona também pode está implicada na mediação do efeito laxativo (AUTORE *et al*, 1990).

Muitos estudos clínicos estão disponíveis discutindo o papel do sene na constipação (GODDING, 1988), inclusive na constipação crônica (MISHALANY, 1989), e sua utilização em idosos (PAHOR *et al*, 1995), pacientes psiquiátricos, pacientes com lesão medular (CORNELL *et al*, 1973) e na gravidez, onde é o laxante estimulante de escolha (GATTUSO; KAMM, 1994). Nos protocolos de tratamento do câncer, dados clínicos mostram que o sene também pode ser usado para reverter a constipação causada pelo efeito colateral do uso de analgésicos narcóticos (CAMERON, 1992). O sene afeta o tempo de trânsito intestinal (EWE *et al*, 1993), e pode também ser indicado nos casos em que se deseja uma evacuação do intestino para a preparação em exames de colonoscopia (ZIEGENHAGEN *et al*, 1992).

O quadro 4 resume as principais atividades farmacológicas da *C. angustifolia*.

Quadro 4 - Principais atividades farmacológicas da *C. angustifolia*

ATIVIDADE	MECANISMO	REFERÊNCIA
Laxativa	Mediado pela reinantrona (formado na flora intestinal à partir das diantronas); Mediado pelo óxido nítrico (GMP cíclico); Mediado pela PGE2 (AMP); mediado pela Histamina liberada	Waltenberg *et al*, 2008; Krumbiegel; Schulz, 1993; Raimondi *et al*., 2002 ; Beubler *et al*, 1988; Autore *et al*, 1990.
Hepatoprotetora	Proteção da membrana dos hepatócitos (terpenóides, flavonóides e taninos).	Ilavarasan *et al*, 2001; Shanmugasundaram *et al*, 2010.
Antifúngica	Mediado por uma saponina triterpeno que inibe o crescimento fúngico.	Khan; Srivastava, 2009
Antioxidante	Provavelmente mediada pelos flavonóides e compostos fenólicos como a epicatequina.	Laghari, 2011
Antidiabética	Redução da absorção de carboidratos no lúmen intestinal, e provavelmente pelo efeito de proteção antioxidante de alguns compostos que evitariam o desenvolvimento da diabetes.	Al-adhal, 2009

3.2.4 Toxicologia

- Citotoxidade e atividade mutagênica

Dados de um estudo *in vitro* usando três diferentes testes (inativação de bactérias; ensaio de mutagênese em bactérias – Mutoxiteste; teste de inibição de crescimento) para investigar a toxidade da *C. angustifolia* sugerem uma ausência de potencialidade mutagênica e citotoxidade desta planta (SILVA *et al*, 2004). Em outro estudo *in vitro*, Silva *et al* (2008) avaliaram os efeitos genotóxicos e mutagênicos de extratos aquosos das folhas desta planta por meio de quatro ensaios experimentais (inativação de culturas de *Escherichia coli*, inibição do crescimento bacteriano, teste de mutação reversa, quebra de cadeia de DNA do DNA de plasmídeos) e constataram ausência de citotoxidade e mutagenicidade para as cepas de *E. coli*, apesar de produzir quebra de fitas simples e duplas do DNA de plasmídeos em sistemas de células livres. O chá de *C. angustifolia* não tem ação citotóxica estatisticamente significativa *in vitro*, quando testado em células meristemáticas de raiz de *Allium cepa*, que é um sistema-teste modelo empregado em avaliações de citotoxidade (PERON et al, 2008). Vasiljevic *et al* (2010) também investigaram a citotoxidade *in vitro* do extrato aquoso das folhas de *C. angustifolia* em várias concentrações (0,1%, 0,01%, 0,001%, e 0,0001%), utilizando células imortais de câncer cervical (HeLa), e constataram que os extratos testados não apresentam atividade citotóxica.

- Hepatotoxidade

Quanto a atividade hepatotóxica, Vitalone *et al* (2011) estudaram estes efeitos no extrato das folhas, *in vitro* e *in vivo*, constatando que a citotoxidade só aparece quando a dose está muito acima daquela preconizada para uso em seres humanos, enquanto que em doses normais ou até um pouco acima da recomendada há ausência de hepatotoxidade. Os extratos das folhas da planta, mesmo em doses de 10 a 50 vezes maiores que as utilizadas em seres humanos e administradas por um período de tempo considerado como ingestão crônica, não afetam a morfologia nem as funções hepáticas em ratos, e *in vitro* a dose só é citotóxica

quando é pelo menos duas mil vezes maior que aquela preconizada para seres humanos (MAMMOLA *et al*, 2011). Hepatotoxidade grave devido o uso de *C. angustifolia* é incomum e o uso crônico, mesmo por períodos muito longos (mais de dois anos), raramente pode ser associado a trombose da veia porta (SOYUNCU; CETE; NOKAY, 2008).

- Gravidez e lactação

Em um estudo com ovelhas grávidas para saber sobre os efeitos dos senosídeos na motilidade uterina, estes não causaram nenhuma alteração significativa e a manutenção da gravidez foi normal em todos os animais (GARCIA-VILLAR, 1988). Admitindo um metabolismo completo dos senosídeos na mãe, a quantidade de metabólitos (reina) excretados no leite materno e ingerida pelo lactente é cerca de mil vezes menor que a quantidade ingerida pela mãe; esta quantidade é insuficiente para causar efeito no lactente (FABER; STRENGE, 1988). Gatuso & Kamm (1994) sugeriram, em uma revisão realizada para avaliar os efeitos adversos de drogas utilizadas no controle da constipação e da diarréia, que o sene deve ser o laxativo estimulante de escolha na gravidez e lactação.

- Pseudomelanose coli e câncer colorretal

Alguns estudos reportaram que o uso de sene por longo prazo poderia levar a um quadro chamado de Pseudomelanose coli, com inflamação crônica da mucosa do cólon, acumulação de resíduos melânicos (pigmentados) nos leucócitos, e apoptose do cólon, resultando no aparecimento de estrias escuras com aparência de "pele de crocodilo" (MITTY *et al*, 1997; BENAVIDES, 1997). No entanto, a lesão pigmentada na pseudomelanose coli associada com o uso de antranóides é estável e desaparece rapidamente depois da descontinuação do uso, sem efeitos como carcinogenicidade e genotoxidade (KRBAVCIC *et al*, 1998). É importante observar que o uso crônico de laxativos não é o único fator que pode levar ao aparecimento de pseudomelanose colônica (BYERS *et al*, 1997).

Outros estudos, têm dado indícios de uma possível associação entre os fatores: aparecimento de pseudomelanose coli/ uso de laxantes contendo derivados antraquinônicos e

aparecimento de câncer colorretal. Porém, um amplo estudo em mais de dois mil pacientes com câncer colorretal, não encontrou associação entre estes fatores (NUSKO *et al*, 1997). Um outro estudo mais recente, envolvendo mais de quinhentos pacientes, incluindo um grupo controle, também não encontrou, mesmo quando os laxativos contendo derivados antraquinônicos eram usados por longo prazo, nenhum risco significativo para o desenvolvimento de adenomas ou carcinomas (NUSKO *et al*, 2000). Nascimbeni *et al* (2002) realizaram um estudo em cinquenta e cinco pacientes com câncer de cólon sigmóide e também não encontraram nenhuma relação causa-efeito significativa do câncer colorretal com constipação, laxantes contendo derivados antraquinônicos ou melanose coli.

- DL_{50} e toxicologia dos senosídeos

A DL_{50} para uma dose única de senosídeos é de aproximadamente 5.000 mg/ kg. A morte ocorre provavelmente devido a uma extensa perda de água e eletrólitos seguida de diarréia maciça. Em estudos com doses subagudas em ratos (máximo de 20 mg/ kg) e cães (máximo de 500mg/kg), os senosídeos não causaram toxicidade sistêmica nem local. Em um estudo de seis meses com ratos, os senosídeos foram tolerados sem efeitos tóxicos específicos em doses acima de 100 mg/kg (MENGS, 1988).

3.3 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

A validação de método analítico é a confirmação por exame e fornecimento de evidência objetiva de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos (SOUZA, 2005). O uso de ferramentas estatísticas adequadas tais como teste T Student e F, análise de variância, regressão linear entre outras, estão indicadas para demonstração dessa evidência objetiva da validade do método (BARROS *et al*, 2002).

Segundo o Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos (RE nº 899/2003-ANVISA), o objetivo da validação é demonstrar que o método é apropriado para a

finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos.

A validação de metodologia analítica é um aspecto vital da garantia da qualidade, constituindo fundamental importância para o controle de qualidade dos produtos farmacêuticos, sendo parte das normas de Boas Práticas de Fabricação e Controle (SOBRINHO *et al*, 2008).

3.4 PLANEJAMENTO FATORIAL E OTIMIZAÇÃO DE PROCESSOS

Um experimento planejado é um teste, ou série de testes, no qual são feitas mudanças propositais nas variáveis de entrada de um processo, de modo a podermos observar e identificar mudanças correspondentes na resposta de saída (MONTGOMERY, 2004). O planejamento fatorial é empregado para se obter as melhores condições operacionais de um sistema, realizando-se um número menor de experimentos quando comparado com o processo univariado de otimização de processo. Ele pode ser usado para determinar que fatores (variáveis) têm efeitos relevantes nas respostas e, também, como o efeito de um fator varia com os níveis (diferentes valores de entrada) dos outros fatores. O planejamento fatorial permite também medir as interações entre diferentes fatores, que são a principal componente de muitos processo de otimização (BRASIL *et al*, 2007).

Normalmente, os planejamentos fatoriais são utilizados na varredura de fatores, para a identificação dos fatores mais importantes que afetam o desempenho de um processo. Uma vez identificado o subconjunto apropriado de variáveis, o próximo passo costuma ser a otimização do processo propriamente dita, ou seja, a determinação do conjunto de condições de operação para as variáveis do processo, que resulte no melhor desempenho do mesmo. Uma metodologia de otimização que é provavelmente a mais utilizada e bem-sucedida, baseada em experimentos planejados, e inicialmente aplicada nas indústrias químicas e de processamento, é a superfície de resposta. Trata-se de um conjunto de técnicas matemáticas e estatísticas úteis na modelagem e na análise em aplicações em que a resposta de interesse é influenciada por diversas variáveis e o objetivo é otimizar a resposta (MONTGOMERY, 2004).

3.5 PROCESSOS DE ADSORÇÃO

O processo de adsorção envolve o contato entre um sólido e um fluido, originando uma transferência de massa da fase fluida para superfície do sólido. O soluto não se difunde no sólido, mas sim fica retido na superfície e/ou nos poros do mesmo como consequência de interações microscópicas com as partículas constitutivas do sólido (RUTHVEN, 1997).

Ainda, o processo de adsorção pode ser unimolecular/ monomolecular, isto é, pode ocorrer numa única camada de moléculas ou multimolecular ocorrendo em diversas camadas (TEIXEIRA *et al*., 2001; FREITAS, 2007).

O processo de adsorção também pode ser de natureza física ou química. O processo de natureza física é caracterizado por forças de interação fraca, tipo *van der Waals*, e o calor liberado está compreendido entre 8 a 25 kJ mol^{-1} (TEIXEIRA *et al*., 2001). Enquanto que o processo de natureza química ocorre por interações fortes, tipo ligação covalente. Neste segundo, a energia é mais alta, normalmente maior que 42 kcal mol^{-1} (TEIXEIRA *et al*., 2001; FREITAS, 2007). Algumas características dos processos de adsorção de natureza química e física estão descrito na tabela 1.

Tabela 1 - Principais características da adsorção física e química

Adsorção física	**Adsorção química**
Interações reversíveis – forças de *van der Waals.*	Forças eletrostáticas e ligações covalentes.
Calor de adsorção: 8 a 25 kJ mol^{-1}.	Calor de adsorção: 42 a 837 kJ mol^{-1}.
Pode ocorrer formação de mono ou multicamadas.	Somente há formação de monocamadas.
Adsorvente quase não é afetado.	Adsorvente altamente modificado.

Fonte: Adaptado de Teixeira *et al*. (2001); Freitas (2007).

A distribuição do adsorbato, entre a fase fluida e a fase adsorvida envolve um equilíbrio de fases, que é governado pelo princípio da termodinâmica. Estes dados de equilíbrio são geralmente registrados na forma de isotermas de adsorção (FREITAS, 2007).

Considerando que em um sistema contendo uma determinada quantidade de adsorvente, a diferença entre a quantidade inicial de adsorbato e a final na solução foi adsorvida na superfície do adsorvente, é possível obter dados para isoterma (ALLEONI *et al*., 1998).

3.5.1 Modelo de Langmuir

O modelo de Langmuir foi originalmente desenvolvido para representar a adsorção em monocamada sobre uma superfície ideal, e apresenta como principal vantagem permitir a quantificação da capacidade de adsorção e avaliar a constante relacionada ao equilíbrio (FREITAS, 2007).

A isoterma de adsorção de Langmuir é talvez o mais conhecido de todos os modelos que descrevem isotermas de adsorção, é frequentemente usado para descrever a adsorção de um soluto a partir de uma solução líquida, este modelo apresenta a seguinte expressão:

$$q_e = \frac{q_m.K_a.C_e}{1+K_a.C_e} \qquad (1)$$

Onde q_e é a capacidade de adsorção no equilíbrio ($mg.g^{-1}$), C_e é a concentração de equilíbrio na fase líquida ($mg.L^{-1}$), q_m é a capacidade máxima de adsorção ($mg.g^{-1}$) e K_a é a constante de adsorção de equilíbrio ($L.mg^{-1}$). A equação de Langmuir pode ser descrita pela forma linearizada (LANGMUIR, 1918).

$$\frac{1}{q_e} = \frac{1}{q_m.K_a.Ce} + \frac{1}{q_m} \qquad (2)$$

O efeito da forma isotérmica pode ser usado para predizer se um sistema de adsorção é "favorável" ou "desfavorável" tanto em sistemas de leito fixo bem como em processos em batelada. Segundo Hall *et al*. (1966) as características essenciais da isotérmica de Langmuir

podem ser expressas em termos de um fator de separação ou parâmetro adimensional constante de equilíbrio K_R, que é definido pela seguinte relação:

$$K_r = \frac{1}{1+K_a.C_0} \qquad (3)$$

Onde K_R é um fator de separação adimensional, e C_0 concentração inicial (mg L^{-1}) e K_a é a constante de Langmuir (mg L^{-1}). O parâmetro K_R indica a forma da isoterma de acordo como mostrado na tabela 2:

Tabela 2 - Fator K_R e os tipos de isotermas

Valor de K_R	Tipo da Isoterma
$K_R > 1$	Não-Favorável
$K_R = 1$	Linear
$0 < K_R < 1$	Favorável
$K_R = 0$	Irreversível

3.5.2 Modelo de Freundlich

O modelo de adsorção de Freundlich foi originalmente introduzido como uma correlação empírica de dados experimentais, admitindo-se uma distribuição logarítmica de sítios ativos (FREITAS, 2007).

A isoterma de Freundlich é uma equação empírica utilizada para descrever sistemas heterogêneos. A equação de Freundlich é expressa como (equação 4):

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \qquad (4)$$

Onde Kf e n são constantes de Freundlich, Kf (mg.g-1) é a capacidade de adsorção do adsorvente e n um indicador se o processo de adsorção é favorável. A magnitude do expoente 1/n, da à indicação do favorecimento do processo de adsorção. Valores de n >1 representam condições favoráveis de adsorção. Quanto maior o valor de n mais energicamente heterogêneos são os sítios de adsorção em sua interpretação (McKay, 1998).

Para determinar os parâmetros de Freundlich, a forma linear da equação (equação 5) pode ser usada para produzir um gráfico de ln (qe) versus ln (Ce). Os valores de Kf e n são calculados do coeficiente angular e linear respectivamente.

$$ln\, q_e = ln\, K_f + \left(\frac{1}{n}\right) ln\, C_e \qquad (5)$$

3.5.3 Termodinâmica do processo de adsorção

O processo de adsorção é um processo espontâneo, representado pela diminuição na energia livre superficial do sistema, conhecida como energia livre de Gibbs, ΔG (FREITAS, 2007). Em processos de adsorção são necessárias considerações termodinâmicas para concluir se o processo de adsorção ocorre de forma espontânea ou não. A energia livre de Gibb's é um critério fundamental de espontaneidade. Reações ocorrem espontaneamente a uma dada temperatura quando o valor de ΔG° é negativo. Os parâmetros termodinâmicos da energia livre de Gibb's para o processo de adsorção são calculado utilizando a equação 6:

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_a \qquad (6)$$

Onde R é a constante universal dos gases (8,314 J.mol-1K-1) e Ka é a constante de Langmuir obtida graficamente em uma dada temperatura (JING *et al*., 2010).

Jing *et al*. (2010) além da obtenção de ΔG°, também verificou a entalpia e entropia do processo de adsorção de azul de metileno em rectorite.

As entalpias, ΔH0, e as entropias, ΔS0, de adsorção são obtidas através da plotagem dos valores das ΔG° versus a temperatura, T, através da equação 7:

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - \mathrm{T}\Delta S^0 \qquad (7)$$

3.6 RESINAS POLIMÉRICAS

Atualmente existem vários tipos de resinas poliméricas e estes materiais vêm sendo cada vez mais utilizadas para se obter substâncias em diversos processos (KYRIALOPOULOS *et al*., 2005).

As resinas Amberlite® da empresa Rohm and Haas Company® são polímeros sólidos, acrílicos alifáticos ou fenólicos, não iônicos, em formato de grânulos de tamanhos variados, com propriedades adsortivas próprias de sua estrutura química macro reticular que apresentam boa estabilidade química e mecânica. Estes materiais têm larga aplicação na indústria alimentícia e farmacêutica e dependendo do tipo, são utilizadas para uma ampla gama de processos de remoção de compostos polares ou não polares, para recuperação de moléculas de extratos de plantas, antibióticos, produtos de fermentação e outros (ROHM AND HAAS COMPANY, 2006).

3.7 ARGILAS

Os meios adsorventes argilas caracterizam-se por serem empregados na forma de pequenos cilindros, grânulos, ou pequenas partículas. As partículas de adsorvente têm uma estrutura muito porosa com muitos poros finos, constituindo os volumes de vazio até 50% do volume total da partícula (GEANKOPLIS, 1993).

A argila esmectítica apresenta grande capacidade de adsorção, por apresentar uma alta área superficial (MURRAY, 2000). As esmectitas apresentam sua estrutura em camadas, como espaços interlamelares, onde se alojam as moléculas de água com os respectivos adosorbatos. As esmectitas e outros grupos de argilominerais, apresentam duas folhas tetraédricas em torno de uma centraloctaédrica, conhecidas como filossilicatos 2:1. Outra designação para as esmectitas é baseada no tipo e na localização dos cátions na estrutura composta pelos átomos de oxigênios (MORGADO, 1998).

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL VEGETAL

Foram utilizadas folhas de *Cassia angustifolia* Vahl, fornecida pela empresa Santosflora Comércio de Ervas Ltda, São Paulo- SP, Brasil, lote: SENT01/1208, originária do nordeste indiano, colhida em fevereiro de 2010. As folhas foram coletadas inteiras em igual estágio de desenvolvimento e com ausência de depredação. O material vegetal fresco foi lavado e posteriormente posto para secagem à sombra. Após secagem, o material foi pulverizado e tamisado para obtenção de pó grosso, segundo especificação da Farmacopéia Brasileira (2010).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

4.2.1 Análise granulométrica

A análise da granulometria foi realizada em triplicata conforme a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). Cerca de 25 g da amostra foram submetidos à passagem por tamises, com aberturas de malha de 2 000, 850, 600, 425 μm, montados nesta ordem, com o tamis de maior abertura sobre o de menor abertura. A tamisação foi realizada a 60 vibrações por segundo durante 15 minutos em tamisador (Bertel). Em seguida, as frações retidas nos tamises e no coletor foram pesadas. O percentual retido em cada tamis foi calculado utilizando a equação [8].

$$\%\ Retida\ pelo\ tamis = \frac{P_1}{P_2} \times 100 \qquad (8)$$

Onde:

P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor

(em gramas);

100 = Fator de porcentagem.

4.2.2 Determinação de água

A determinação de água foi realizada em triplicata conforme a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). Cerca de 5 g da amostra foram exatamente pesados em balança analítica (AND HR 200, capacidade máxima 210 ± 0,0001 g), e transferidos para pesa-filtro tarado, previamente dessecado a 105 °C por 5 horas. A amostra foi então dessecada a 105 °C por 5 horas, quando se observou peso constante. Foi utilizada nas dessecações a estufa Marconi MA-033/1. A percentagem de água na amostra foi calculada de acordo com a equação [9].

$$\%\ de\ água = \frac{5-Pc}{5} \times 100 \qquad (9)$$

Onde:

Pc = Peso da amostra ao atingir peso constante (em gramas)

5 = Massa da amostra inicial (em gramas)

100 = Fator de porcentagem

4.2.3 Identificação das amostras

A identificação das amostras foi realizada em triplicata conforme a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). Foi utilizada sílica-gel GF254, com espessura de 250 µm, como suporte, e a mistura de acetato de etila, álcool n-propílico, água purificada e ácido acético glacial (40:40:30:1) como fase móvel. Aplicou-se, separadamente, em forma de banda, 10 µL

da *Solução (1)* e 10 µL da *Solução (2)*, recentemente preparadas. A *Solução (1)* foi preparada à partir de 0,5 g da amostra em 5 mL de mistura de etanol e água purificada (1:1), aquecida à ebulição e filtrada. Para o preparo da *Solução (2)*, foram dissolvidos separadamente 2,5 mg de senosídeo A e 2,5 mg de senosídeo B em 1 mL de metanol e 1 mL de água purificada. O cromatograma foi desenvolvido e a placa removida para secar ao ar. Posteriormente, a placa foi nebulizada com ácido nítrico a 25% e aquecida por 10 minutos a 120 °C. Ao esfriar, a placa foi novamente nebulizada, desta vez com solução de hidróxido de potássio a 5% (p/v), até o aparecimento de manchas.

4.2.4 Determinação do teor de derivados hidroxiantracênicos

A determinação do teor foi realizada em triplicata conforme a Farmacopéia Brasileira 5ª edição (2010). Cerca de 0,15 g da amostra foram exatamente pesados em balão de fundo redondo com boca esmerilhada. Em seguida, foram adicionados 30 mL de água purificada, e o conjunto foi pesado em balança analítica. O conjunto pesado foi aquecido em manta de aquecimento, sob refluxo, durante 15 minutos. Após resfriamento, o conjunto foi novamente pesado e o peso inicial foi restabelecido com água purificada, e em seguida foi filtrado desprezando-se os 10 mL iniciais. Exatamente 10 mL do filtrado foram transferidos para um funil de separação de 50 mL, onde foi adicionada uma gota de ácido clorídrico 2 M e em seguida lavado com três porções de 5 mL de clorofórmio. A fase clorofórmica foi rejeitada. A fase aquosa foi centrifugada durante 10 minutos a 2000 rpm. A seguir, 4 mL do líquido sobrenadante foram transferidos para balão de fundo redondo com boca esmerilhada. O pH da solução foi ajustado para 7,0 a 8,0 com cerca de 80 µL de solução de carbonato de sódio a 5% (p/v) e depois foram adicionados 8 mL de solução de cloreto férrico a 10,5% (p/v). Após adição do cloreto férrico, o conjunto foi aquecido, sob refluxo e agitação, em banho-maria durante 20 minutos. Foram adicionados 0,4 mL de ácido clorídrico concentrado e o aquecimento foi mantido por mais 20 minutos, agitando-se frequentemente, até dissolução do precipitado. Após resfriamento, a solução foi transferida para funil de separação de 50 mL e extraída com 10 mL e duas vezes de 7 mL de éter etílico, previamente utilizado para lavar o balão de fundo redondo. Os extratos etéreos foram reunidos e lavados com duas vezes de 10

mL de água purificada. A camada etérea foi transferida para balão volumétrico de 25 mL e o volume completado com éter etílico. A *solução amostra* foi preparada evaporando-se 5 mL da solução etérea, em banho-maria, até resíduo, que foi então ressuspendido com 5 mL de acetato de magnésio a 0,5% (p/v) em metanol. Imediatamente após o seu preparo, a absorvância da *solução amostra* foi medida em espectrofotômetro UV-Visível (Micronal, B582), em 515 nm, utilizando metanol para ajuste do zero. O teor de derivados hidroxiantracênicos foi calculado como senosídeo B, utilizando 240 como valor de absorvância específica, segundo a equação [10].

$$SB = \frac{A \times 0{,}781}{m} \qquad (10)$$

Onde:

SB = derivados hidroxiantracênicos;
A = absorvância da solução amostra;
m = massa da amostra considerando a determinação de água.

4.3 VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DE DERIVADOS HIDROXIANTRACÊNICOS EM SENOSÍDEOS B NO EXTRATO.

Para a validação do método analítico para quantificação de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B no extrato fluido, foram avaliados os parâmetros: seletividade, linearidade e intervalo, precisão, exatidão e robustez, de acordo com as normas estabelecidas pela RE n° 899 de 2003 (BRASIL, 2003). O presente estudo utilizou como referência a monografia para extrato de sene da Farmacopéia Portuguesa 9ª edição (2010).

4.3.1 Reagentes e vidrarias

Os reagentes utilizados foram grau analítico: éter etílico P.A (Vetec®), ácido clorídrico P.A (Vetec®), ácido sulfúrico P.A (Vetec®), iodeto de potássio P.A (Vetec®), sulfato de Ferro II P.A (Vetec®), bicarbonato de sódio P.A (Vetec®), amido P.A (Vetec®), metanol P.A

(Vetec®, Synth®, Merck®), acetato de magnésio P.A (Vetec®), senosídeo B padrão (Chromadex®, lote: 19159-08B), extrato padronizado de sene em 10% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B (Finzelberg®). As vidrarias volumétricas foram calibradas pela empresa Teclabor®.

4.3.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados no estudo foram balança analítica AND® modelo HR 200; aquecedor Quimis® modelo Q-261-2; estufa Marconi®; banho-maria Marconi®, espectrofotômetro UV-Vis Micronal® modelo B582.

4.3.3 Preparação das soluções

Éter etílico isento de peróxidos: foi misturado 1000 mL de éter etílico P.A com 20 mL de uma solução de 30 g de sulfato de ferro (II) em 55 mL de água purificada e 3 mL de ácido sulfúrico P.A. Continuou-se agitando até que uma pequena amostra não mais produzisse uma cor azul após ser misturada com um volume igual de solução de iodeto de potássio 2% (p/v) e 0,1 mL de amido SI (solução indicadora) que foi preparada no dia do uso da seguinte forma: foi triturado 1 g de amido com 10 mL de água purificada fria e despejado lentamente, sob agitação constante, em 200 mL de água purificada recentemente fervida. A mistura foi fervida até se obter um fluido translúcido e pouco denso. Deixou-se sedimentar e somente o líquido sobrenadante límpido foi utilizado.

Ácido clorídrico diluído: 20 g de ácido clorídrico P.A foram diluídos em água purificada até completar o volume de 100 mL.

Solução de cloreto férrico: 105 g de cloreto férrico reagentes foram diluídos em água purificada até completar o volume de 1 litro.

Solução de acetato de magnésio: 5 g de acetato de magnésio foram diluídos em metanol até completar o volume de 1 litro.

Solução padrão a 0,5% de senosídeos B: foi dissolvido 1 g de Senosideos B padrão em 200 mL de água purificada.

Extrato de sene (matriz vegetal): foi preparado utilizando-se 30 g de extrato padronizado de sene (10% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B) diluídos em líquido extrator (60% v/v etanol/ água purificada) até completar o volume de 1000 mL, para a obtenção da matriz vegetal no teor equivalente a do extrato fluido (0,3% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B).

4.3.4 Seletividade

Este ensaio foi determinado pela análise em triplicata de amostras contendo todos os excipientes (álcool/água 60%) do extrato fluido de sene exceto a planta (matriz vegetal), identificadas como “placebo”, e pela análise em triplicata de amostras do placebo adicionado do padrão de referência senosídeos B na concentração de 0,3% para comprovar ausência de interferência dos demais componentes da formulação no doseamento dos derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B. A concentração média e o desvio padrão foram calculados tanto para as amostras de placebo quanto para as amostras do placebo adicionado do padrão.

- Análise das amostras do placebo

O procedimento abaixo foi repetido para todas as amostras analisadas (triplicata), estando também representado no fluxograma da figura 1.

1. Num balão de 100 mL foram introduzidos 3,4 g do placebo, dissolvidos em água purificada, e o volume foi completado para 100,0 mL com o mesmo solvente. A solução foi filtrada e os primeiros 10 mL de filtrado foram rejeitados;

2. Foram colocados 20,0 mL de filtrado num funil de decantação de 150 mL. Foi adicionado 0,1 mL de ácido clorídrico diluído (preparado conforme descrito no item 4.3.3) e agitou-se 3 vezes com 15 mL de éter etílico de cada vez. Deixou-se separar as camadas e rejeitou-se a camada etérea.

3. 0,10 g de bicarbonato de sódio foi adicionado à camada aquosa e esta foi agitada durante 3 min. Centrifugou-se e colocou-se 10 mL do sobrenadante num balão de fundo redondo e colo esmerilado de 100 mL.

4. 20 mL de solução de cloreto férrico 105 g/L foram então adicionados e misturados. O balão foi colocado em banho de água e aquecido com refluxo durante 20 min tendo o cuidado de manter o nível da água do banho sempre acima do nível da solução do balão.

5. 3 mL de ácido clorídrico P.A foram adicionados e continuou-se a aquecer durante 30 min, agitando frequentemente, até dissolução do precipitado.

6. A mistura foi arrefecida e transferida para um funil de decantação onde foi agitada 3 vezes com 25 mL de éter etílico de cada vez com o qual, o balão foi previamente lavado.

7. As soluções etéreas foram reunidas e lavadas 2 vezes com 15 mL de água purificada de cada vez.

8. As camadas etéreas foram colocadas num balão volumétrico e o volume completado com éter para 100,0 mL.

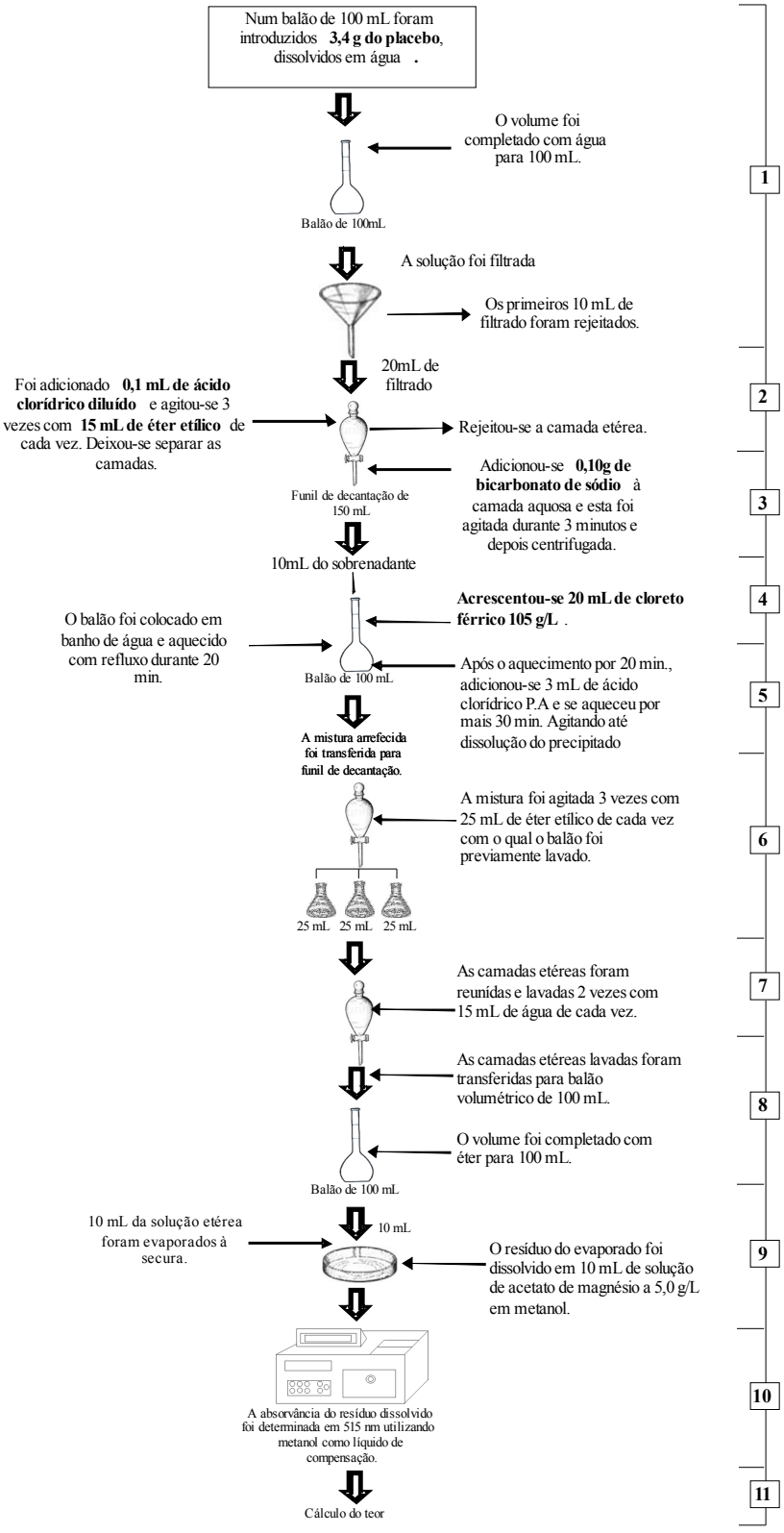
9. Foram então evaporados à secura, com precaução, 10,0 mL desta solução e o resíduo dissolvido em 10,0 mL de solução de acetato de magnésio a 5,0 g/L em metanol.

10. A absorvância foi determinada em 515 nm utilizando metanol como líquido de compensação.

11. O teor foi calculado por cento em derivados hidroxiantracênicos, calculados em senosídeos B, usando a fórmula [11], onde A = absorvância em 515 nm e m = massa em gramas:

$$\frac{A \times 4{,}167}{m} \qquad (11)$$

Figura 1 – Fluxograma do procedimento analítico para a quantificação de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B no extrato.



- Análise das amostras placebo + padrão

As amostras do placebo adicionadas do padrão foram analisadas em triplicata conforme descrito acima para as amostras do placebo, apenas adicionando-se a mais 3,4 mL da diluição da solução padrão de senosídeos B preparada (equivalente a 10,2 mg de derivados hidroxiantracênicos em senosídeos B) logo após a adição do placebo.

A diluição da solução padrão de senosídeos B (0,5%) foi realizada da seguinte forma: transferiu-se 6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e completou-se os volumes com água, para se obter a solução com concentração de 0,3%.

4.3.5 Linearidade e intervalo

A linearidade e o intervalo foram determinados com a análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de 3 (três) curvas com 7 (sete) pontos de 50%, 80%, 90%, 100%, 110%, 120%, 150% equivalentes a 0,15; 0,24; 0,27; 0,30; 0,33; 0,36; 0,45% de senosídeos B. O coeficiente de correlação foi obtido a partir da média de três curvas de sete concentrações diferentes. O intervalo estudado foi de 50% a 150% da concentração em análise, sendo que cinco concentrações estão entre 80 a 120%.

- Preparação das amostras

1. Foram transferidos 3 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,15% (equivalente a 15 mg de senosídeos B).

2. Foram transferidos 4,8 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,24% (equivalente a 24 mg de senosídeos B).

3. Foram transferidos 5,4 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,27% (equivalente a 27 mg de senosídeos B).

4. Foram transferidos 6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,3% (equivalente a 30 mg de senosídeos B).

5. Foram transferidos 6,6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,33% (equivalente a 33 mg de Senosídeos B).

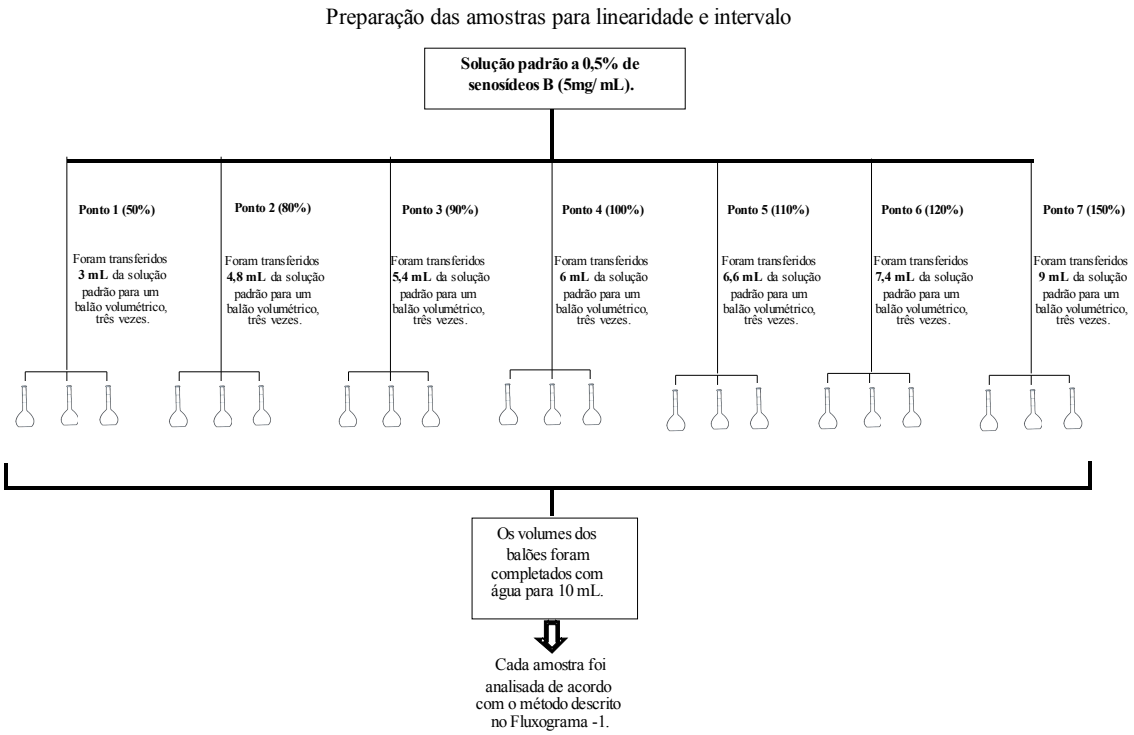
6. Foram transferidos 7,4 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,37% (equivalente a 37 mg de Senosídeos B).

7. Foram transferidos 9 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e os volumes foram completados com água purificada, para a solução com concentração média de 0,45% (equivalente a 45 mg de Senosídeos B).

8. Foram colocados 3,4 mL de cada diluição preparada (equivalente a 5,1; 8,16; 9,18; 10,2; 11,22; 12,24; 15,3 mg de senosídeos B) em um balão de 100 mL, onde foram dissolvidos em água purificada e o volume completado para 100,0 mL. A solução foi filtrada e os primeiros 10 mL de filtrado foram rejeitados. As etapas seguintes seguiram o procedimento já descrito anteriormente no item 4.3.4.

O fluxograma da figura 2 representa esta etapa de preparação das amostras.

Figura 2 – Fluxograma do procedimento de preparação das amostras para linearidade e intervalo.



4.3.6 Precisão

A precisão foi determinada nos níveis de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi realizada por determinações da concentração em 06 (seis) amostragens diferentes utilizando a metodologia analítica de doseamento dos derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B, descrita no item 4.3.4. A precisão intermediária foi determinada em dois dias diferentes por dois analistas diferentes em amostragem triplicata.

A amostra utilizada foi o extrato de sene (concentração teórica de 0,3% derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B).

Para a precisão foi calculado o desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (CV%), não se admitindo valores superiores a 5% de acordo com a RE n° 899 de 2003 (ANVISA, 2003)

4.3.7 Exatidão

A exatidão foi realizada em triplicata, utilizando os pontos dentro do intervalo linear, 50%, 100% e 150% equivalentes a 0,15, 0,3 e 0,45% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B, pelo método de adição de padrão, no qual se adiciona quantidades conhecidas do analito (padrão de referência) ao extrato. Em seguida, cada amostra foi analisada em triplicata e foram avaliados através do teste *t* Student, comparando-se os resultados em relação ao valor teórico definido para cada concentração analisada.

- Preparação da solução a 40% do extrato de sene: Diluiu-se a 40% o extrato de sene com os excipientes (etanol/água 60%), para se obter um equivalente a 0,12% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B.

- Diluições da solução padrão de senosídeos B a 0,5%:

1. Transferiu-se 0,6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e completou-se os volumes com água purificada, para a solução com concentração média de 0,03% (equivalente a 3 mg de senosídeos B).

2. Transferiu-se 3,6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e completou-se os volumes com água purificada, para a solução com concentração média de 0,18% (equivalente a 18 mg de senosídeos B).

3. Transferiu-se 6,6 mL da solução padrão de senosídeos B para 03 balões volumétricos de 10 mL e completou-se os volumes com água purificada, para a solução com concentração média de 0,33% (equivalente a 33 mg de senosídeos B).

- Análise das amostras

1. Num balão de 100 mL foram introduzidos 3,4 mL da solução a 40% do extrato de sene (equivalente a 4,08 mg de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B), foram adicionados 3,4 mL da diluição do padrão preparada (1,02; 6,12 ou 11,22 mg de senosídeos B), dissolvido em água e depois o volume foi completado para 100,0 mL. A solução foi filtrada e os primeiros 10 mL de filtrado foram rejeitados.

As etapas seguintes para a análise destas amostras (itens 2 ao 11) seguiram o procedimento já descrito anteriormente no item 4.3.4.

4.3.8 Robustez

O ensaio foi determinado a partir da variação dos seguintes parâmetros: variando o tempo de aquecimento com refluxo (15, 20 e 25 minutos), variando a temperatura ambiente (23, 25 e 27 °C), tempo para a separação da camada etérea (3, 5 e 10 minutos) e diferentes fabricantes de metanol (Synth®, Vetec® e Merck®).

4.4 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXTRATIVAS POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS

4.4.1 Planejamento experimental

O planejamento experimental foi realizado em duas etapas. A primeira foi realizada utilizando-se um planejamento fatorial completo 2^3 adicionado ponto central, com o objetivo de determinar quais fatores são significativos ($p < 0,05$) na obtenção das melhores respostas para a realização de um novo planejamento. Após a triagem dos fatores com o planejamento fatorial, uma análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central foi

realizada para se obter as melhores condições operacionais com melhor relação entre as respostas SB/RS (teor de derivados hidroxiantracênicos em senosídeo B/ resíduo seco).

Os fatores e os níveis estudados foram: A - massa de planta utilizada nos níveis 10, 12,5 e 15 g (respectivamente 1, 0 e -1); B - concentração da solução hidroetanólica nos níveis 40, 50 e 60% (respectivamente 1, 0 e -1); e C - método de extração nos níveis maceração e decocção com agitação (respectivamente 1 e -1).

Cada ensaio realizado durante os dois planejamentos foi obtido de forma aleatória com o objetivo de evitar que fatores indesejáveis contaminem os efeitos investigados. E o tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o software MINITAB® 14.

4.4.2 Preparação dos extratos

Método 1 : maceração (modificada)

A quantidade de amostra da planta (10, 12,5 ou 15 g) foi macerada com 100 mL do solvente extrativo (solução hidroetanólica 40, 50 e 60%) durante 2 dias.

Método 2: decocção com agitação (decocção modificada)

A quantidade de amostra da planta (10, 12,5 ou 15 g) foi aquecida em aquecedor Quimis® modelo Q-261-2, com 100 mL do solvente extrativo (solução hidroetanólica 40, 50 ou 60%) a uma temperatura de 60 °C, durante 30 minutos, com agitador magnético.

4.4.3 Avaliação das respostas

Determinação do resíduo seco:

Foram transferidos 2 mL de extrato para placa de Petri previamente pesada, os quais foram evaporados até secura em banho-maria Marconi® BM01 e, posteriormente, dessecados em estufa Marconi® MA-033/1 a 105 ºC, por 3 horas. Após dessecar, a amostra foi esfriada em dessecador, sobre pentóxido de fósforo. Após esfriar, a amostra foi pesada em balança

analítica AND® –HR 200. O resíduo seco foi calculado em porcentagem sobre o volume inicial (2 mL).

Determinação do teor de derivados hidroxiantracênicos nos extratos:

O teor de derivados hidroxiantracênicos calculados em senosídeos B, foi determinado conforme método validado (item 4.3).

4.5 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

4.5.1 Meios adsorventes

Os meios adsorventes usados neste estudo foram: as argilas Tonsil terrana 580 FF®, Tonsil supreme 182 FF® e Tonsil supreme 180 FF® fornecidas pela empresa Süd Chemie do Brasil Ltda; e as resinas poliméricas Amberlite XAD7HP®, XAD761® e XAD1180N® fornecidas pela empresa ROHM and HAAS Company™.

- Argila Tonsil Terrana 580 FF

A argila Tonsil terrana 580 FF®, é uma argila esmectítica natural com elevada capacidade de adsorção e suas características são apresentadas na tabela 3. Possui diversas aplicações como agente adsorvente, desde re−refino de óleos lubrificantes e isolantes com alto conteúdo de materiais pigmentados de natureza asfáltica e resinosa, até a remoção de metais e compostos de produtos vegetais (SUD CHEMIE DO BRASIL LTDA, 2011).

Tabela 3 - Características da argila Tonsil terrana 580 FF

Características	Especificações
Massa Especifica Aparente (Kg. m^{-3})	700-800
Velocidade de Filtração (s)	Máximo 60
Acidez Livre (% H_2SO_4)	Isenta
Umidade (% H_2O)	4,0 - 12,0
Perda ao fogo a 950º C (%)	8,0 - 16,0
SiO_2(%p/p)	40,0 - 60,0
Al_2O_3 (%p/p)	12,0 - 22,0
Fe_2O_3 (%p/p)	4,0 - 8,0
MgO (%p/p)	1,0 - 8,0
CaO (%p/p)	1,0 - 8,0
TiO_2 (%p/p)	0,4 - 3,0
K_2O (%p/p)	1,8 - 4,8
Na_2O(%p/p)	0,0 - 3,0

Fonte: Sud Chemie do Brasil Ltda (2011)

- Argila Tonsil supreme 182 FF

A argila Tonsil supreme 182 FF®, é uma argila esmectítica natural com elevada capacidade de adsorção e suas características são apresentadas na tabela 4. Possui diversas aplicações como agente adsorvente na remoção de compostos de produtos vegetais (SUD CHEMIE DO BRASIL LTDA, 2011).

Tabela 4 - Características da argila Tonsil supreme 182FF

Características	Especificações
Massa Especifica Aparente (Kg. m^{-3})	520 – 620
Velocidade de Filtração (s)	Máximo 60
Acidez Livre (% H_2SO_4)	Máximo 60
Umidade (% H_2O)	5,0 - 15,0
Perda ao fogo a 950º C (%)	8,0 - 16,0
SiO_2(%p/p)	55,0 – 70,0
Al_2O_3 (%p/p)	9,0 – 18,0
Fe_2O_3 (%p/p)	3,0 – 6,0
MgO (%p/p)	0,8 – 3,5
CaO (%p/p)	0,8 – 3,5
TiO_2 (%p/p)	0,6 – 1,6
K_2O (%p/p)	0,9 – 2,5
Na_2O(%p/p)	0,0 – 0,8

Fonte: Sud Chemie do Brasil Ltda (2011)

- Argila Tonsil supreme 180 FF

A argila Tonsil supreme 180 FF®, é uma argila esmectítica natural com elevada capacidade de adsorção e suas características são apresentadas na tabela 5. Possui diversas aplicações como agente adsorvente na remoção de compostos de produtos vegetais (SUD CHEMIE DO BRASIL LTDA, 2011).

Tabela 5 - Características da argila Tonsil supreme 180FF

Características	**Especificações**
Massa Especifica Aparente (Kg. m^{-3})	520 - 620
Velocidade de Filtração (s)	Máximo 60
Acidez Livre (% H_2SO_4)	Máximo 1,0
Umidade (% H_2O)	5,0 - 15,0
Perda ao fogo a 950º C (%)	8,0 - 16,0
SiO_2(%p/p)	60,0 – 75,0
Al_2O_3 (%p/p)	8,0 – 16,0
Fe_2O_3 (%p/p)	2,0 – 5,0
MgO (%p/p)	0,8 – 2,2
CaO (%p/p)	0,5 – 2,0
TiO_2 (%p/p)	0,7 – 1,3
K_2O (%p/p)	0,7 – 1,4
Na_2O(%p/p)	0,0 – 0,3

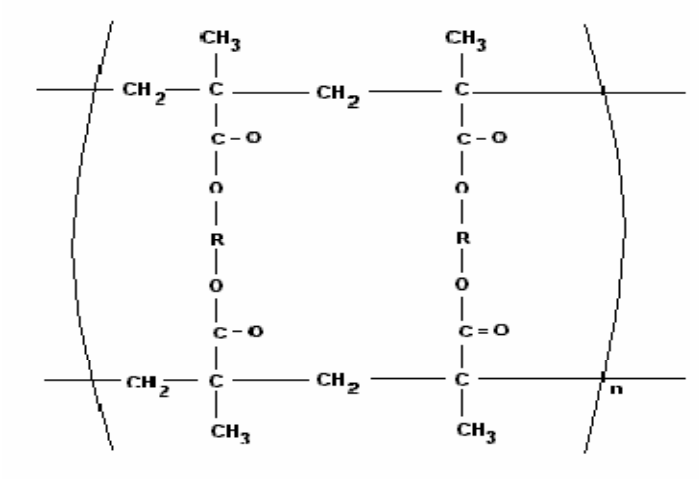
Fonte: Sud Chemie do Brasil Ltda (2011)

- Amberlite XAD7HP

A Amberlite XAD7HP® é um adsorvente polimérico produzido pela ROHM and HAAS Company, em forma de grânulos brancos insolúveis. É um polímero acrílico alifático não iônico que tem suas propriedades adsortivas derivadas de sua estrutura macro reticular (figura 3). Devido a sua natureza alifática, o adsorvente polimérico Amberlite XAD7HP pode adsorver uma ampla gama de compostos não polares ou polares de sistemas líquidos, sendo

bem utilizado na recuperação de moléculas de extratos de plantas. Suas propriedades físicas estão descritas na tabela 6 (ROHM and HAAS Company, 2006).

Figura 3 - Estrutura química da Amberlite XAD7HP.



Fonte: ROHM and HAAS Company (2006)

Tabela 6 - Propriedades físicas da Amberlite XAD7HP

Propriedade	
Forma física	Grãos brancos translúcidos
Tamanho de partícula	0,56-0,71 mm
Conteúdo de finos	< 0,300 mm = máximo 7%
Área superficial	≥ 380 $m^2.g^{-1}$
Porosidade	≥ 0,50 $mL.mL^{-1}$
Coeficiente de uniformidade	≥ 2,0

Fonte: ROHM and HAAS Company, 2006

- Amberlite XAD761

A Amberlite XAD761® é um adsorvente polimérico produzido pela ROHM and HAAS Company, é uma resina fenólica altamente porosa, em forma granular, desenvolvida para remover substâncias orgânicas de soluções por adsorção. Tem larga aplicação na indústria alimentícia e farmacêuticas para adsorção de uma ampla gama de substâncias vegetais como alcalóides, corantes, flavorizante, antocianinas e outros. Suas propriedades físicas estão descritas na tabela 7 (ROHM and HAAS Company, 2008).

Tabela 7 - Propriedades físicas da Amberlite XAD761

Propriedade	
Forma física	Grãos brancos translúcidos
Tamanho de partícula	0,56-0,71 mm
Conteúdo de finos	< 0,300 mm = máximo 7%
Área superficial	$\geq 380\ m^2.g^{-1}$
Porosidade	$\geq 0,50\ mL.mL^{-1}$
Coeficiente de uniformidade	≥ 2,0

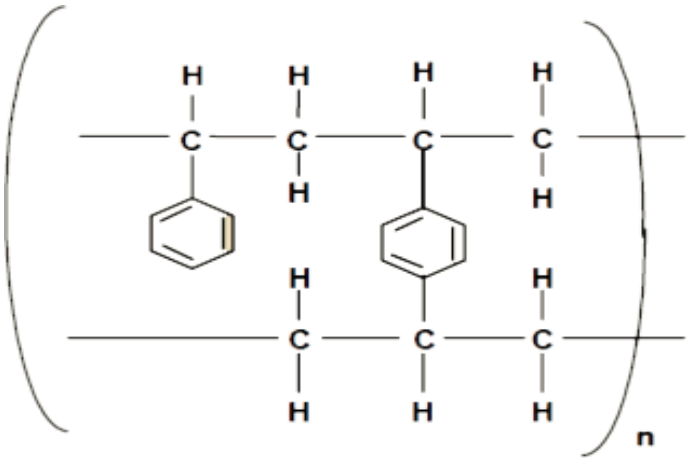
Fonte: ROHM and HAAS Company, 2006

- Amberlite XAD 1180N

A Amberlite XAD 1180N® é um adsorvente polimérico produzido pela ROHM and HAAS Company, em forma de grânulos brancos insolúveis. É um polímero acrílico alifático não iônico que tem suas propriedades adsortivas derivadas de sua estrutura macroreticular (figura 4). Devido às características de sua estrutura, este adsorvente pode adsorver uma ampla gama de compostos não polares ou polares de sistemas em solução, sendo bem

utilizado na adsorção de moléculas orgânicas de extrato de plantas, antibióticos e produtos de fermentação. Suas propriedades físicas estão descritas na tabela 8 (ROHM and HAAS Company, 2007).

Figura 4 - Estrutura química da Amberlite XAD 1180N.



Fonte: ROHM and HAAS Company (2007)

Tabela 8 - Propriedades físicas da Amberlite XAD 1180N

Propriedade	
Forma física	Grãos brancos translúcidos
Tamanho de partícula	0,35-0,60 mm
Conteúdo de finos	< 0,250 mm = máximo 5%
Área superficial	$\geq 450 m^2.g^{-1}$
Porosidade	≥ 1,4 cc/g
Coeficiente de uniformidade	≤1,8

Fonte: ROHM and HAAS Company, 2006

4.5.2 Lavagem das resinas poliméricas

Pela recomendação técnica do fabricante da resina, a lavagem das resinas visa a remoção de sais de cloreto de sódio e carbonato de sódio que são adicionados à resina para impedir o crescimento de bactérias (ROHM and HAAS Company, 2006, 2007 e 2008). O processo de lavagem da resina constitui uma etapa do início do estudo da adsorção. A lavagem desse material visa eliminar possíveis interferentes e/ou contaminantes presentes na resina, além de garantir que os sítios adsortivos estejam livres para facilitar a impregnação com o adsorvato. Em literaturas foram encontrados diversos processos de lavagem das resinas Amberlite, utilizando vários solventes tais como água, etanol, ácido clorídrico entre outros (TEIXEIRA, 2001; FREITAS, 2007).

Para verificar qual o melhor processo de lavagem das resinas poliméricas, para cada resina foi testada o desempenho da adsorção dos derivados hidroxiantracênicos após três diferentes tipos de lavagem:

1. Lavagem de 20 g de cada resina com 100 mL de água purificada, mantendo em contato o solvente e a resina por 10 minutos. A água de lavagem foi desprezada e o procedimento foi repetido duas vezes;
2. Lavagem de 20 g de cada resina com 100 mL de ácido clorídrico 0,1 $mol.L^{-1}$, mantendo em contato o solvente e a resina por 10 minutos. O solvente da lavagem foi desprezado e o procedimento foi repetido duas vezes;
3. Lavagem de 20 g de cada resina com 100 mL de etanol 96° GL, mantendo em contato o solvente e a resina por 10 minutos. O solvente da lavagem foi desprezado e o procedimento foi repetido duas vezes.

Após o procedimento de lavagem acima, cada resina foi filtrada e mantida em dessecador por 48 horas. Em seguida, foi realizado o processo de adsorção utilizando 10 g de resina, 100 mL de extrato de sene e 60 minutos de agitação. O sobrenadante foi analisado após o tempo de contato e o teor de derivados hidroxiantracênicos determinado de acordo com método descrito no item 4.3.

4.5.3 Ensaios de adsorção

Os ensaios de adsorção foram realizados em um béquer com capacidade volumétrica de 200 mL, onde foi introduzida a massa do adsorvente junto com o volume de extrato fluido padronizado de sene. O contato entre o extrato e o adsorvente foi realizado através de agitação com agitador magnético (QUIMIS®, Q261). Depois de determinado período de tempo, interrompia-se a agitação e procedia-se a retirada de amostra do líquido sobrenadante para quantificação dos derivados hidroxiantracênicos conforme método (item 4.3).

4.5.4 Estudo do tempo de contato

O estudo de tempo de agitação foi realizado variando o tempo de 10 a 60 minutos em intervalos de 10 minutos utilizando uma massa de 10 g do adsorvente e volume de 100 mL do extrato de sene conforme método descrito no item 4.5.3. Após cada intervalo de tempo retirava-se a amostra do sobrenadante para a quantificação dos derivados hidroxiantracênicos determinado de acordo com método descrito no item 4.3. Cada ensaio foi realizado em triplicata.

4.5.5 Estudo de planejamento fatorial do processo de adsorção

O planejamento experimental foi realizado utilizando-se um planejamento fatorial completo 2^3 com a adição de ponto central, com o objetivo de determinar quais fatores são significativos ($p < 0,05$) na adsorção dos derivados hidroxiantracênicos de extrato fluido

padronizado e em quais níveis obtêm-se as melhores respostas. A resposta estudada no planejamento foi a porcentagem da quantidade adsorvida de derivados hidroxiantracênicos. Foram realizados 6 planejamentos utilizando os mesmos fatores e níveis só alterando o tipo do adsorvente.

Os fatores e os níveis estudados foram: A – quantidade de extrato nos níveis 75, 100 e 125 mL (respectivamente -1, 0 e +1); B – quantidade do adsorvente nos níveis 5, 10 e 15 g (respectivamente -1, 0 e +1); e C – tempo de agitação nos níveis 50, 60 e 70 minutos (respectivamente -1, 0 e +1).

Cada ensaio realizado foi obtido de forma aleatória e em duplicata com o objetivo de evitar que fatores indesejáveis contaminem os efeitos investigados. E o tratamento estatístico dos dados foi realizado utilizando o software MINITAB® 14.

4.5.6 Isotermas de adsorção

Para gerar os dados experimentais das isotermas de adsorção utilizou-se quantidades conhecidas de adsorvente que foram colocadas em contato com o adsorbato em um tempo de contato pré-definido e temperatura constante.

Foram realizadas determinação das isotermas de adsorção para cada adsorvente utilizando as melhores condições de adsorção obtidas no estudo dos fatores através de planejamento fatorial, as isotermas foram determinadas em 3 temperaturas (25, 30 e 35°C).

A quantidade de derivados hidroxiantracênicos no equilíbrio, q_e em $mg.g^{-1}$, em cada béquer foi calculada pela equação 12:

$$q_e = \frac{V.(C_0 - C_e)}{m} \qquad (12)$$

Onde V é o volume do extrato fluido de sene utilizado (mL), C_0 é a concentração inicial de derivados hidroxiantracênicos, C_e é a concentração (mg/mL) obtida no equilíbrio e m é a massa de adsorvente utilizada. A variação de q_e para aplicação das isotermas foi na

concentração inicial de derivados hidroxiantracênicos, através de preparação de extratos diluídos no solvente etanol/ água 60% v/v, nas seguintes proporções de extrato por solvente: 100:0; 90:10; 80:20; 70:30 60:40 e 50:50. Estas diluições foram correspondentes as concentrações iniciais de 3,0; 2,7; 2,4; 2,1; 1,8; e 1,5 mg/mL de derivados hidroxiantracênicos.

Para todos adsorventes foram aplicados os modelos linearizados das isotermas de Langmuir e Freundlich (equação 2 e 5, respectivamente) que foram calculados utilizando os softwares MINITAB® 14 e o Microsoft Excel®. A partir dos dados obtidos das isotermas de Langmuir foram calculados os parâmetros de equilíbrios de adsorção para cada adsorvente utilizando a equação 6 para calcular a energia livre de Gibb's e a equação 7 através da análise do gráfico plotado da energia livre de Gibb's versus a temperatura para obtenção da entropia e entalpias de adsorção. Onde, o coeficiente angular representa a variação de entalpia e coeficiente linear corresponde a entropia do sistema.

5 Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

A caracterização da matéria-prima é algo primordial no âmbito farmacêutico, principalmente quando se trata de material vegetal, e esta foi realizada por meio de análise granulométrica, determinação de água, métodos cromatográficos e teor de ativos, preconizados pela Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010). A análise granulométrica em triplicata mostrou que nas três análises 100% das partículas do pó passaram pelos tamises com abertura nominal de malha de 2000 μm e 850 μm, e pelo menos 50% ficaram retidas no tamis com abertura nominal de 425 μm, o que está em conformidade com a especificação de "pó grosso", segundo a descrição farmacopêica (BRASIL, 2010). A especificação da granulometria do pó é importante no processo de extração, pois a área superficial das partículas sofre influência desta, no entanto, um pó muito fino não é desejado uma vez que pode favorecer a formação de aglomerados que podem acabar prejudicando a extração. A determinação de água apresentou todos os resultados abaixo de 10% e um resultado médio de 7,5%, em conformidade com o teor máximo de 10 % determinado na monografia da planta. O cromatograma obtido com a solução 1 (amostra) apresentou duas manchas de coloração castanho avermelhadas similares em tamanho e coloração às manchas obtidas com a solução 2 (padrões) referentes ao senosídeo B (Rf aproximadamente 0,2) e ao senosídeo A (Rf aproximadamente 0,4), demonstrando a presença dos marcadores para a planta (figura 5). O doseamento dos ativos se apresentou em conformidade com o preconizado pela monografia faramcopêica da planta, com o resultado médio de 2,8% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B, e todas as análises condizentes com o mínimo de 2,5% preconizado, assegurando a qualidade para estes marcadores. Estes resultados para a caracterização da matéria-prima vegetal foram agrupados na tabela 9.

Figura 5- Identificação da *Cassia angustifolia* por CCD

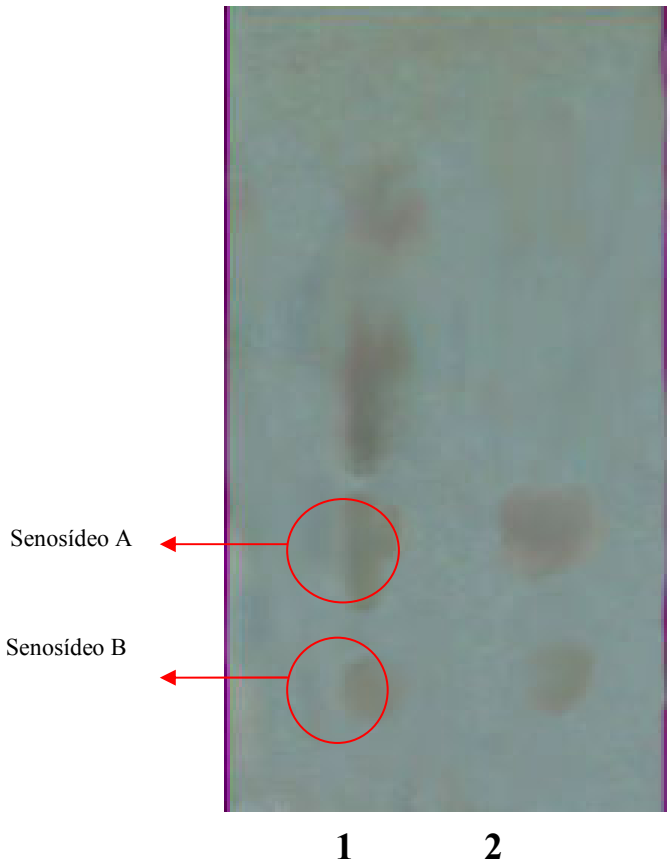


Tabela 9 - Resultados da caracterização do material vegetal (folhas de *C. angustifolia*)

Análise	Resultado
Análise granulométrica	100% das partículas < 850 µm e 50% > 425 µm
Determinação de água	7,5%
CCD	Duas manchas castanho avermelhadas com Rf 0,2 (senosídeo B) e 0,4 (senosídeo A)
Teor de ativos	2,8% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B.

5.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

5.2.1 Seletividade

Os resultados obtidos para a seletividade estão agrupados na tabela 10. A comparação da análise das amostras placebo e placebo mais padrão mostrou que os excipientes do extrato de sene não interferem na quantificação de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B.

Tabela 10 – Resultados da seletividade do método

ANÁLISE	**PLACEBO + PADRÃO (%)**	**PLACEBO (%)**
1ª Análise	0,302	0,000
2ª Análise	0,301	0,000
3ª Análise	0,302	0,000
Concentração Média	**0,3017**	**0,0000**
DESVPAD	**0,0006**	**0,000**
CV%	**0,20**	**0,00**

5.2.2 Linearidade e intervalo

Os resultados do estudo da linearidade estão agrupados na tabela 11, bem como a média dos pontos estudados.

Tabela 11 - Dados da curva média de calibração para determinação da linearidade do método.

CONCENTRAÇÃO TEÓRICA (%)	Abs (515nm)			MÉDIA	Desv. Pad	CV %
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
0,150	0,124	0,126	0,126	0,125	0,0009	0,75
0,240	0,194	0,197	0,197	0,196	0,0014	0,72
0,270	0,227	0,221	0,215	0,221	0,0049	2,22
0,300	0,249	0,246	0,248	0,248	0,0012	0,50
0,330	0,265	0,273	0,271	0,270	0,0034	1,26
0,360	0,295	0,292	0,295	0,294	0,0014	0,48
0,450	0,371	0,368	0,370	0,370	0,0012	0,34

Os resultados dos pontos das três curvas de linearidade foram plotados na figura 6 (x, y), a concentração teórica de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B do extrato de sene no eixo X e a absorvância a 515 nm no eixo Y. Pelo método dos mínimos quadrados obteve-se a seguinte equação da reta $y = 0,8158x + 0,0015$.

A análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação $R^2 = 0,9997$ valor que comprova a linearidade do método, e os 0,0003 dos valores são explicados pelos resíduos (figura 7). O gráfico dos resíduos mostra que o modelo está bem ajustado, indicando uma distribuição linear e aleatória dos dados.

Figura 6 - Linearidade do método verificando a regressão das três curvas

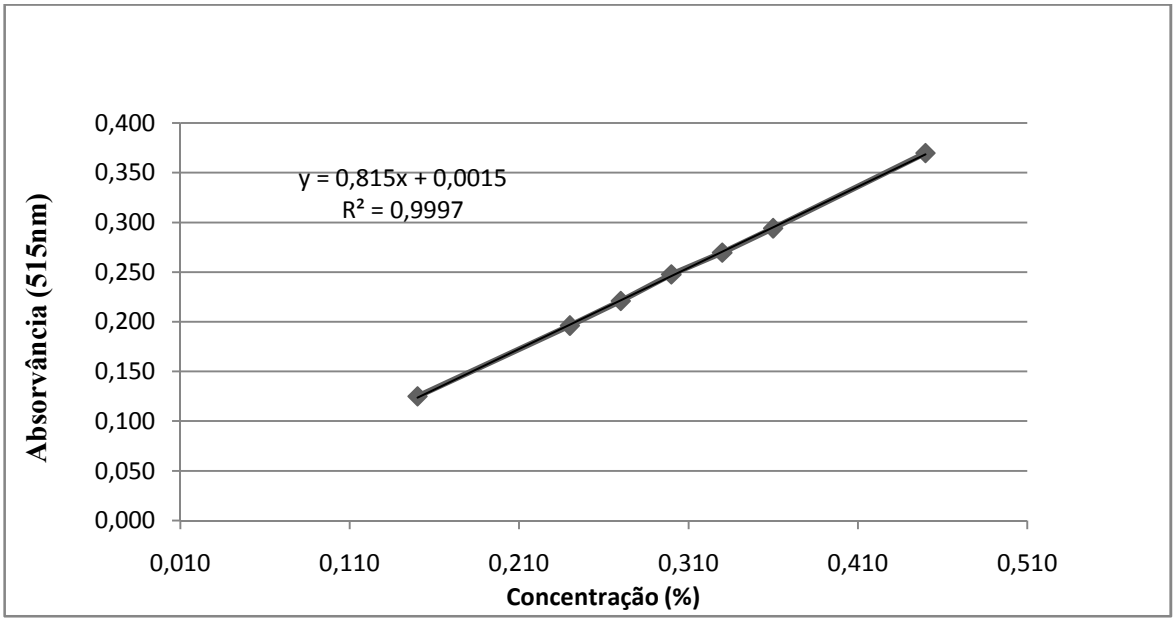
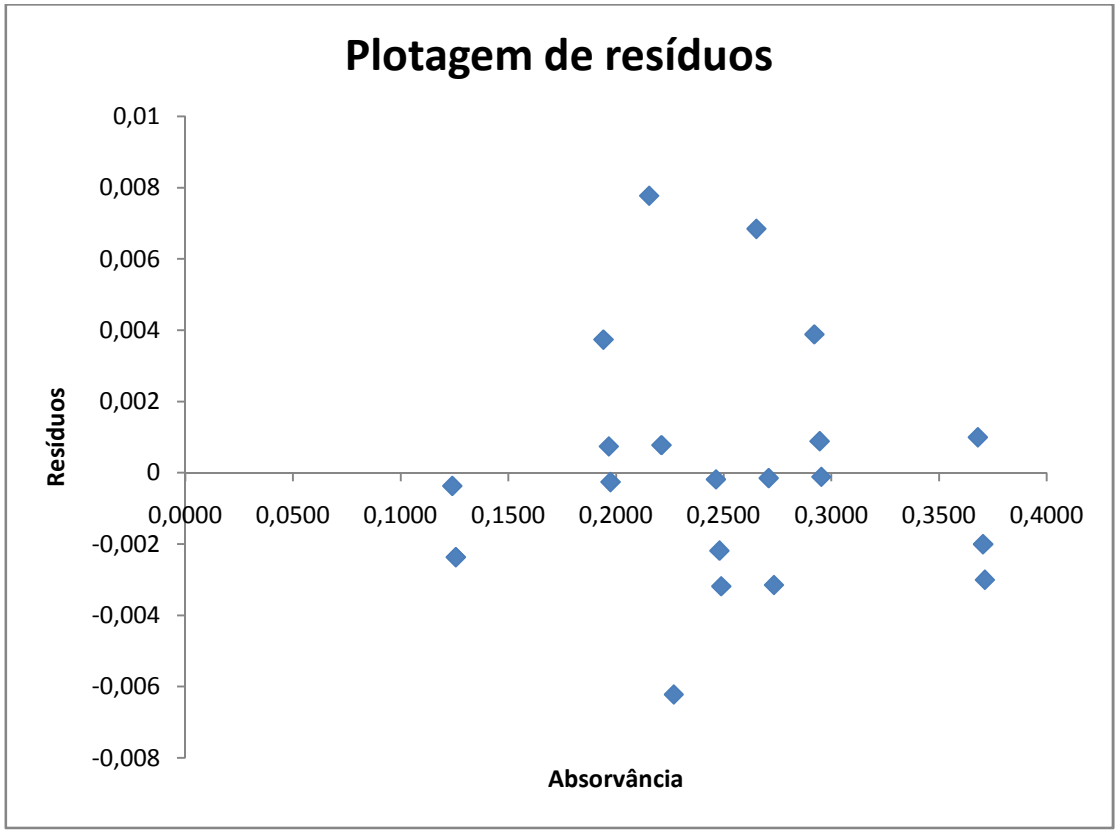


Figura 7 - Gráfico dos resíduos da absorvância (515 nm).



5.2.3 Precisão

- Repetibilidade

O resultados da repetibilidade estão agrupados na tabela 12.

Tabela 12 - Resultados da repetibilidade.

Amostra	PREPARAÇÃO DA AMOSTRA Concentração de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B (%)
1	0,301
2	0,303
3	0,308
4	0,309
5	0,301
6	0,306
Média	**0,3045**
Desv. Pad	**0,0035**
CV%	**1,14**

Observando-se os resultados, podemos dizer que o método tem uma boa repetibilidade, visto que o coeficiente de variação foi de 1,14% que é inferior ao especificado pela Resolução RE nº 899 de 2003 (ANVISA, 2003) que especifica o limite do coeficiente de variação em 5,0%.

- Precisão intermediária

A precisão intermediária foi realizada em dias diferentes e com analistas diferentes, utilizando a concentração teórica de 0,3% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B. Seus resultados estão agrupados na tabela 13. As tabelas 14, 15, 16 e 17 mostram os valores dos tratamentos estatísticos por análise de variância (ANOVA) obtidos na precisão intermediária.

Tabela 13 - Resultados da precisão intermediária entre dias realizada por analistas diferentes.

	Analista 1		**Analista 2**	
	Dia 1	**Dia 2**	**Dia 1**	**Dia 2**
Concentração Teórica de 0,3%	0,300	0,305	0,305	0,301
	0,309	0,307	0,306	0,305
	0,308	0,300	0,309	0,309
Média	**0,3058**	**0,3041**	**0,3066**	**0,3049**
DP	**0,0050**	**0,0037**	**0,0022**	**0,0035**
CV%	**1,63**	**1,22**	**0,72**	**1,16**

Tabela 14 - Avaliação da precisão intermediária do analista 1 em diferentes dias de acordo com ANOVA.

Fonte da variação	***SQ***	***gl***	***MQ***	***F***	***valor-P***	***F crítico***
Analista 1						
Entre dias	0,000004377	1	0,000004377	0,2274	0,65836	7,7086
Dentro dos grupos	0,000077002	4	0,000019251			
Total	0,00008138	5				

Tabela 15 Avaliação da precisão intermediária do analista 2 em diferentes dias de acordo com ANOVA.

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Analista 2						
Entre dias	0,000004343	1	0,000004343	0,500551	0,51830	7,7086
Dentro dos grupos	0,000034708	4	0,000008677			
Total	0,000039052	5				

Tabela 16 Avaliação da precisão intermediária entre analistas no primeiro dia de acordo com ANOVA.

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Primeiro dia						
Entre Dias e Analistas	0,000000952	1	0,000000952	0,0640	0,81275	7,7086
Dentro dos grupos	0,00005951	4	0,00001488			
Total	0,00006046	5				

Tabela 17 Avaliação da precisão intermediária entre analistas no segundo dia de acordo com ANOVA.

Fonte da variação	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*valor-P*	*F crítico*
Segundo dia						
Entre Dias e Analistas	0,00000097	1	0,00000097	0,0742	0,79883	7,7086
Dentro dos grupos	0,00005220	4	0,00001305			
Total	0,00005317	5				

O estudo da precisão intermediária do método entre ensaios demonstrou que não há diferenças estatísticas entre as amostras pesquisadas individualmente em pequeno intervalo de tempo, tanto para dias quanto para analista de acordo com ANOVA considerando um intervalo de confiança de 95%.

A ANOVA indicou que não houve diferença significativa entre as diferentes análises realizadas na avaliação da precisão intermediária do método. Sendo o método considerado preciso.

5.2.4 Exatidão

A determinação da exatidão foi realizada no mesmo dia com três concentrações diferentes de (baixa, média e alta) 0,15%; 0,3%; 0,45% de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeos B pela adição do padrão de referência ao extrato diluído.

Tabela 18 - Resultados da exatidão do método.

Concentração Teórica (%)	**AMOSTRA A 40% + 1,02 mg PADRÃO (50%)**	**AMOSTRA A 40% + 6,12 mg PADRÃO (100%)**	**AMOSTRA A 40% + 11,22 mg PADRÃO (150%)**
1ª Análise	0,152	0,301	0,452
2ª Análise	0,151	0,303	0,453
3ª Análise	0,154	0,302	0,450
Concentração Média	**0,1523**	**0,3020**	**0,4517**
DESVPAD	**0,00153**	**0,00100**	**0,00153**
CV (%)	**1,00**	**0,33**	**0,34**
EXATIDÃO(%)	**101,56**	**100,67**	**100,37**

Tabela 19 Determinação dos resultados estatísticos da exatidão de acordo com o teste t de *Student*.

Percentual	t calculado	t tabelado
50%	2,646	4,303
100%	3,464	
150%	1,890	

A exatidão do método foi comprovada pelo estudo de três concentrações diferentes (50%, 100%, 150%). O estudo estatístico aplicado foi o t Student o qual demonstrou que os "t" calculados, respectivamente 2,646; 3,464; 1,89 foram menores que o t tabelado, 4,303, comprovando que não houve diferença significativa entre as médias das três concentrações analisadas com o nível de confiança de 95%, sendo o método considerado exato.

5.2.5 Robustez

- Avaliação da robustez variando o tempo de aquecimento

A tabela 20 mostra a avaliação da robustez variando o tempo de aquecimento com refluxo. Para o parâmetro avaliado, verificou-se estatisticamente através da ANOVA (análise de variância) que não há diferença significativa entre os resultados. Obtendo-se um Fcalculado = 0,232 menor que o Ftabelado = 5,1432, o método apresenta-se robusto, não existindo, em um nível de 95% de confiança, variação estatística fora dos padrões exigidos quanto à variação do tempo de aquecimento com refluxo.

Tabela 20 Avaliação da robustez variando o tempo de aquecimento com refluxo.

Tempo de aquecimento com refluxo	Amostra 1 Concentração (%)	Amostra 2 Concentração (%)	Amostra 3 Concentração (%)
15 minutos	0,292	0,302	0,305
20 minutos	0,293	0,297	0,297
25 minutos	0,300	0,291	0,292
Média	**0,2948**	**0,2967**	**0,2977**
Desv pad	**0,00433**	**0,00539**	**0,00637**
CV(%)	**1,47**	**1,82**	**2,14**

- Avaliação da robustez variando a temperatura do ambiente

A tabela 21 mostra a avaliação da robustez variando o parâmetro temperatura ambiente. Para o parâmetro avaliado, verificou-se estatisticamente através da ANOVA que não há diferença significativa entre os resultados. Obtendo-se um Fcalculado = 0,395 menor que o Ftabelado = 5,1432, o método apresenta-se robusto, não existindo, em um nível de 95% de confiança, variação estatística quanto à variação da temperatura ambiente.

Tabela 21 Avaliação da robustez variando a temperatura do ambiente.

Temperatura ambiente	Amostra 1 Concentração (%)	Amostra 2 Concentração (%)	Amostra 3 Concentração (%)
23 °C	0,295	0,299	0,299
25 °C	0,302	0,297	0,293
27 °C	0,294	0,307	0,309
Média	**0,2968**	**0,3011**	**0,3003**
Desv pad	**0,0047**	**0,0053**	**0,0081**
CV(%)	**1,59**	**1,77**	**2,69**

- Avaliação da robustez variando o tempo para a separação da camada etérea

A tabela 22 mostra a avaliação da robustez variando o parâmetro tempo para a separação da camada etérea. Para o parâmetro avaliado, verificou-se estatisticamente através da ANOVA que não há diferença significativa entre os resultados. Obtendo-se um Fcalculado = 0,005 menor que o Ftabelado = 5,1432, o método apresenta-se robusto, não existindo, em um nível de 95% de confiança, variação estatistica quanto à variação do tempo para a separação da camada etérea.

Tabela 22 Avaliação da robustez variando o tempo para a separação da camada etérea.

Tempo para a separação da camada etérea	**Amostra 1**	**Amostra 2**	**Amostra 3**
	Concentração (%)	**Concentração (%)**	**Concentração (%)**
3 minutos	0,299	0,301	0,302
5 minutos	0,309	0,306	0,297
10 minutos	0,291	0,295	0,302
Média	**0,3000**	**0,3004**	**0,3004**
Desv pad	**0,0091**	**0,0053**	**0,0027**
CV(%)	**3,04**	**1,75**	**0,91**

- Avaliação da robustez variando os fabricantes de metanol

A tabela 23 mostra a avaliação da robustez variando o parâmetro fabricantes de metanol. Para o parâmetro avaliado, verificou-se estatisticamente através da ANOVA que não há diferença significativa entre os resultados. Obtendo-se um Fcalculado = 0,113 menor que o Ftabelado = 5,1432, o método apresenta-se robusto, não existindo, em um nível de 95% de confiança, variação estatística quanto à variação do fabricante de metanol.

Tabela 23 Avaliação da robustez variando os fabricantes de metanol

Diferentes fabricantes de Metanol	Amostra 1 Concentração (%)	Amostra 2 Concentração (%)	Amostra 3 Concentração (%)
Synth	0,302	0,296	0,304
Vetec	0,292	0,299	0,298
Merck	0,309	0,309	0,293
Média	**0,3009**	**0,3011**	**0,2987**
Desv pad	**0,0084**	**0,0069**	**0,0053**
CV(%)	**2,79**	**2,28**	**1,79**

5.3 OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES EXTRATIVAS POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS

A otimização das condições de operação do processo extrativo foi realizada primeiramente seguindo um planejamento fatorial composto central 2^3 para uma seleção dos fatores significativos. Os valores da determinação de resíduo seco (RS) e derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B (SB) dos extratos obtidos das folhas de *C. angustifolia* e os resultados para cada variação observada estão descritos na tabela 24.

Tabela 24 Planejamento fatorial completo 2^3 com pontos centrais.

O valor de SB e RS (%) corresponde ao resultado experimental

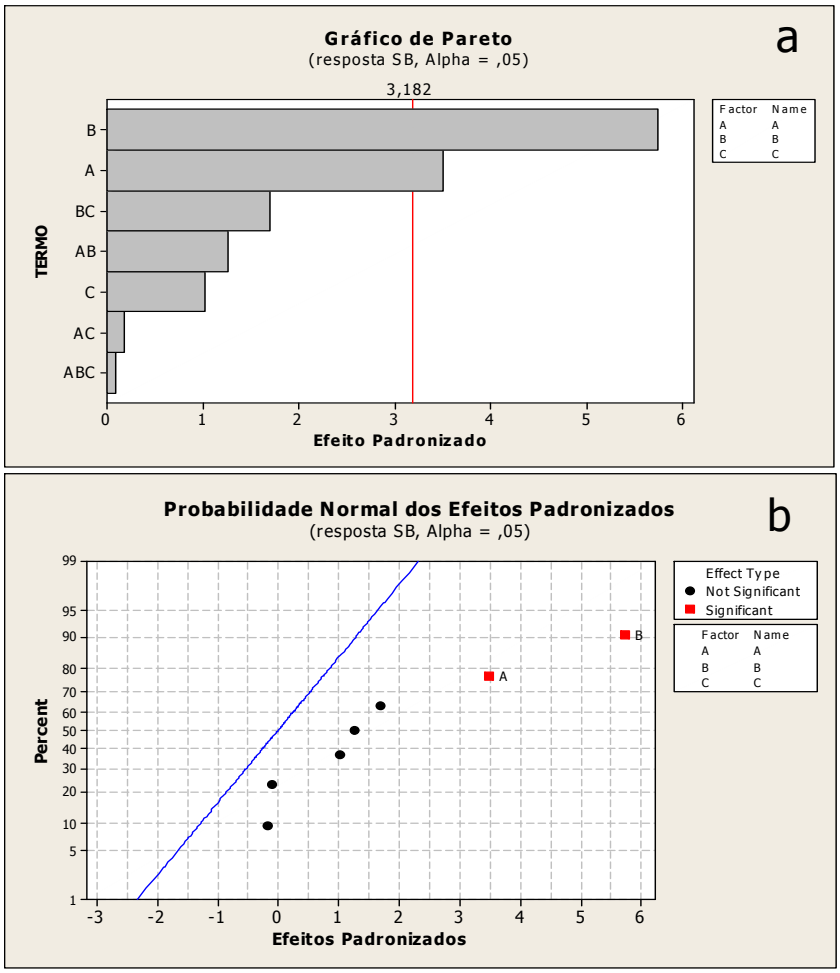
Experimentos	A	B	C	SB (%)	RS (%)
1	-1	1	1	0,310	3,80
2	-1	1	-1	0,290	3,75
3	0	0	-1	0,295	4,05
4	1	-1	1	0,287	4,12
5	1	1	1	0,335	4,15
6	-1	-1	1	0,275	3,79
7	0	0	-1	0,293	4,00
8	1	-1	-1	0,288	4,11
9	0	0	1	0,284	3,98
10	1	1	-1	0,318	4,15

		Níveis	
Fatores	-1	0	1
A: Quantidade de planta	10 g	12,5 g	15 g
B: Concentração de etanol	40%	50%	60%
C: Método de extração	Maceração	------	Decocção

A figura 8b mostra a curva da distribuição de probabilidade normalizada para os efeitos padronizados para a resposta senosídeo B (SB), para se avaliar cada fator e suas interações no processo de extração das folhas de *C. angustifolia*. Este gráfico é dividido em duas regiões, a com porcentagem inferior a 50%, onde os fatores e interações apresentam coeficientes negativos e a região com porcentagem acima de 50%, onde os fatores e as interações apresentam coeficientes positivos.

Na figura 8a é apresentado o gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em p = 0,05. Todos os efeitos padronizados estão em valores absolutos. Todos os efeitos para a resposta SB que apresentaram valores maiores que 12,71 (p = 0,05), que se localizam à direita da linha tracejada, foram significativos.

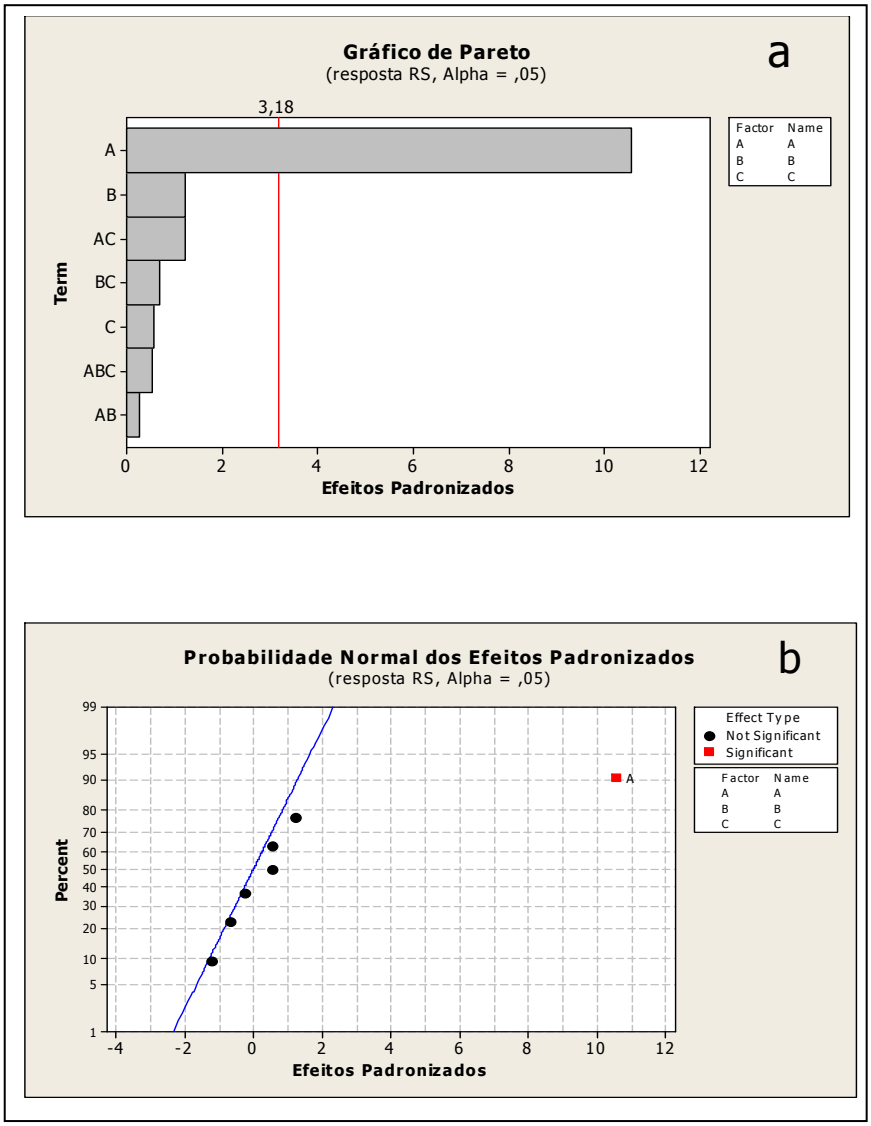
Figura 8 - Probabilidade normal e gráfico de Pareto para a resposta SB.



Analisando-se os gráficos da figura 8, pode-se dizer que a concentração da solução hidroetanólica foi a variável mais importante do processo global da extração. O valor positivo de seu coeficiente significou que a extração foi favorecida em valores da concentração de solução hidroetanólica próximo a 60%. Desta forma a passagem do nível inferior para o nível superior na concentração de etanol na solução extrativa influencia positivamente no teor de senosídeos B (SB). A quantidade de planta utilizada também favoreceu a extração de SB de maneira positiva.

A figura 9a e 9b mostra, respectivamente, o gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em p = 0,05 e a curva da distribuição de probabilidade normalizada para os efeitos padronizados para a resposta resíduo seco (RS).

Figura 9 - Probabilidade normal e gráfico de Pareto para a resposta RS.



Analisando-se os gráficos da figura 9, pode-se dizer que a quantidade de massa da planta (fator A) utilizada na preparação dos extratos foi a variável mais importante do processo global da extração para a resposta resíduo seco (RS). O valor positivo de seu coeficiente significou que o teor de RS foi favorecido em valores da quantidade de planta próximo a 15 g. Desta forma a passagem do nível inferior para o nível superior da quantidade de planta influencia positivamente o teor de RS.

Entre os fatores principais, a passagem do nível inferior para o nível intermediário na massa da planta, proporcionou um aumento tanto no teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B (SB) quanto no resíduo seco (RS). Assim, o aumento na massa de planta influencia positivamente no teor de SB e no RS.

Após realização da triagem dos fatores utilizando o planejamento fatorial completo 2^3, uma análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central foi realizada de acordo com os experimentos descritos na tabela 25, para se obter as melhores condições operacionais com melhor relação SB/RS. Os níveis dos fatores escolhidos foram ajustados, baseados no experimento prévio de planejamento fatorial descrito acima, usando o método de extração por decocção, pois apesar do método de extração não ser um fator significativo no processo, a decocção apresentou melhor resultado geral (tabela 24) além de possuir um tempo de preparo menor. Os novos níveis avaliados da massa de planta e concentração de solução hidroetanólica estão descritos na tabela 25.

Na figura 10a, é mostrada a superfície de resposta senosídeos B (SB) em função da quantidade de planta e concentração da solução hidroetanólica. Foi observado que a massa da planta entre 17,5 e 20 g não apresentou efeito significativo na extração de SB, ocorrendo provavelmente saturação quando esta relação é extrapolada, não havendo mais aumento do teor de SB. Na figura 10b, é apresentada a curva de contorno da resposta (SB) para a quantidade de planta versus concentração da solução hidroetanólica. Foi observado que os melhores resultados ocorreram em maiores concentrações, próximo a 60% da concentração de etanol no nível central do fator quantidade da planta, confirmando os dados da figura 10a.

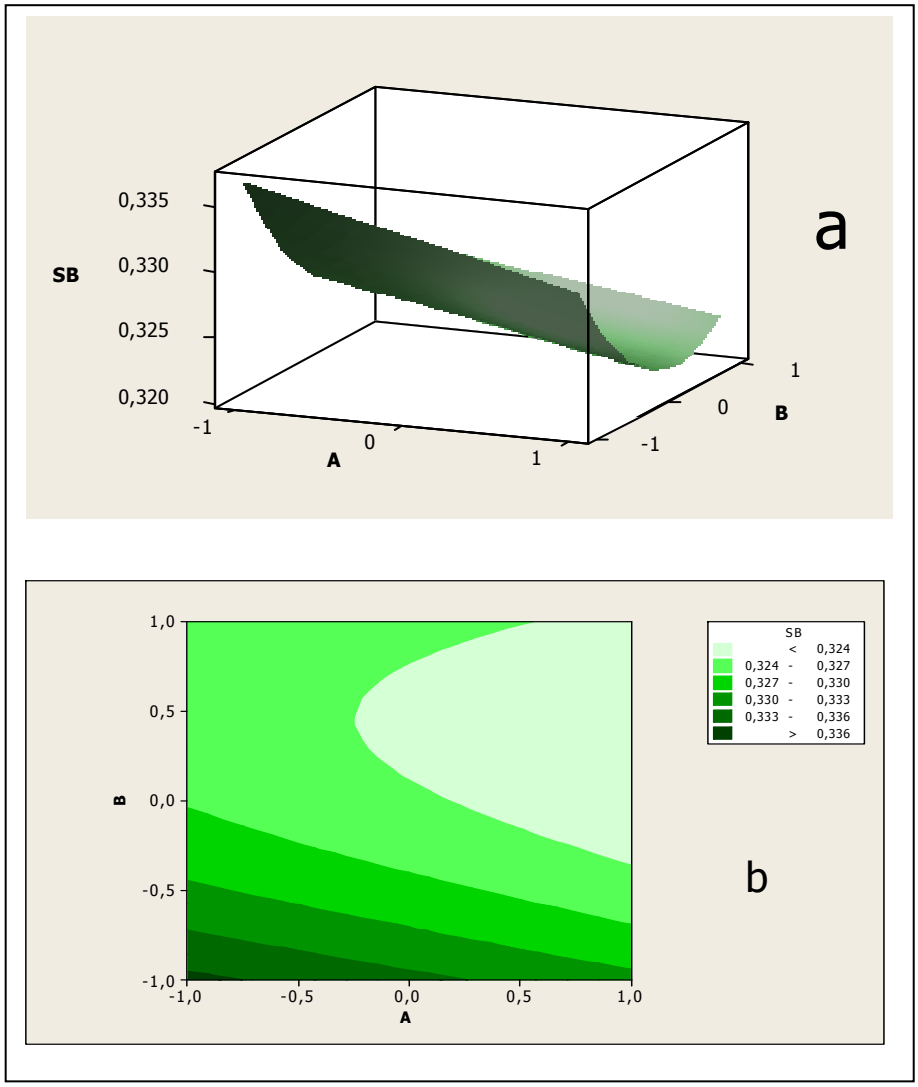
Tabela 25- Análise de superfície de resposta

Análise de superfície de resposta empregando planejamento composto central contendo 13 experimentos e 2 fatores (Q_p, C_e). O método de extração foi decocção com agitação

Experimentos	A	B	SB	RS
1	0	0	0,3250	4,21
2	0	-1	0,3330	4,20
3	-1	1	0,3270	4,12
4	-1	0	0,3250	4,11
5	0	0	0,3230	4,18
6	0	1	0,3270	4,15
7	1	0	0,3250	4,41
8	0	0	0,3250	4,21
9	1	-1	0,3300	4,43
10	-1	-1	0,3383	4,10
11	1	1	0,3210	4,10
12	0	0	0,3230	4,22
13	0	0	0,3250	4,19

	Níveis		
Fatores	-1	0	1
A: Quantidade de planta	15 g	17,5 g	20 g
B: Concentração de etanol	60%	65%	70%

Figura 10 - Superfície de resposta e curvas de contorno para senosídeos B (SB)



Na tabela 26, é apresentada a análise de regressão da superfície de resposta para a extração de senosídeos B (SB). Apenas a concentração da solução hidroetanólica (C_e) e C_e^2 foram significativas ($p< 0,05$). Todos os demais fatores não foram significativos, pois apresentaram probabilidade maior que 0,05. O coeficiente de correlação ao quadrado (R^2) foi de 94,9%. O aumento da concentração da solução hidroetanólica não significou em um aumento do teor de SB sendo, seus maiores valores próximos ao nível -1, como observados na curva de contorno da figura 10b.

Tabela 26- Análise de regressão da superfície de resposta para senosídeos B (SB).

P- probabilidade, SE- erro padrão do coeficiente.

Os valores dos coeficientes são dados em unidades codificadas.

Termo	Coeficiente	SE Coeficiente	P
Constante	0,324438	0,000854	0,000
A	-0,002383	0,000840	0,250
B	-0,004383	0,000840	0,007
A*A	-0,000033	0,001238	0,980
B*B	-0,008824	0,001238	0,005
A*B	0,001500	0,001070	0,594
S = 0,002058	R^2 = 94,9%		

Analisando-se a figura 10 e os dados da tabela 26, pode-se concluir que a faixa ótima de massa da planta adicionada para a extração de senosídeos B (SB) é de 15 g. A quantidade extraída de SB aumenta com a concentração da solução hidroetanólica, podendo ser expressa pela Equação: $SB = 0,324438 - 0,004383C_e - 0,008824C_e^2$. ($R^2$= 94,90%).

A análise da superfície de resposta com relação ao resíduo seco obtido no extrato fluido preparado está apresentada na figura 11a e 11b e a análise de regressão da superfície de resposta para a extração de resíduo seco (RS) na tabela 27.

Figura 11- Superfície de resposta e curvas de contorno para resíduo seco (RS)

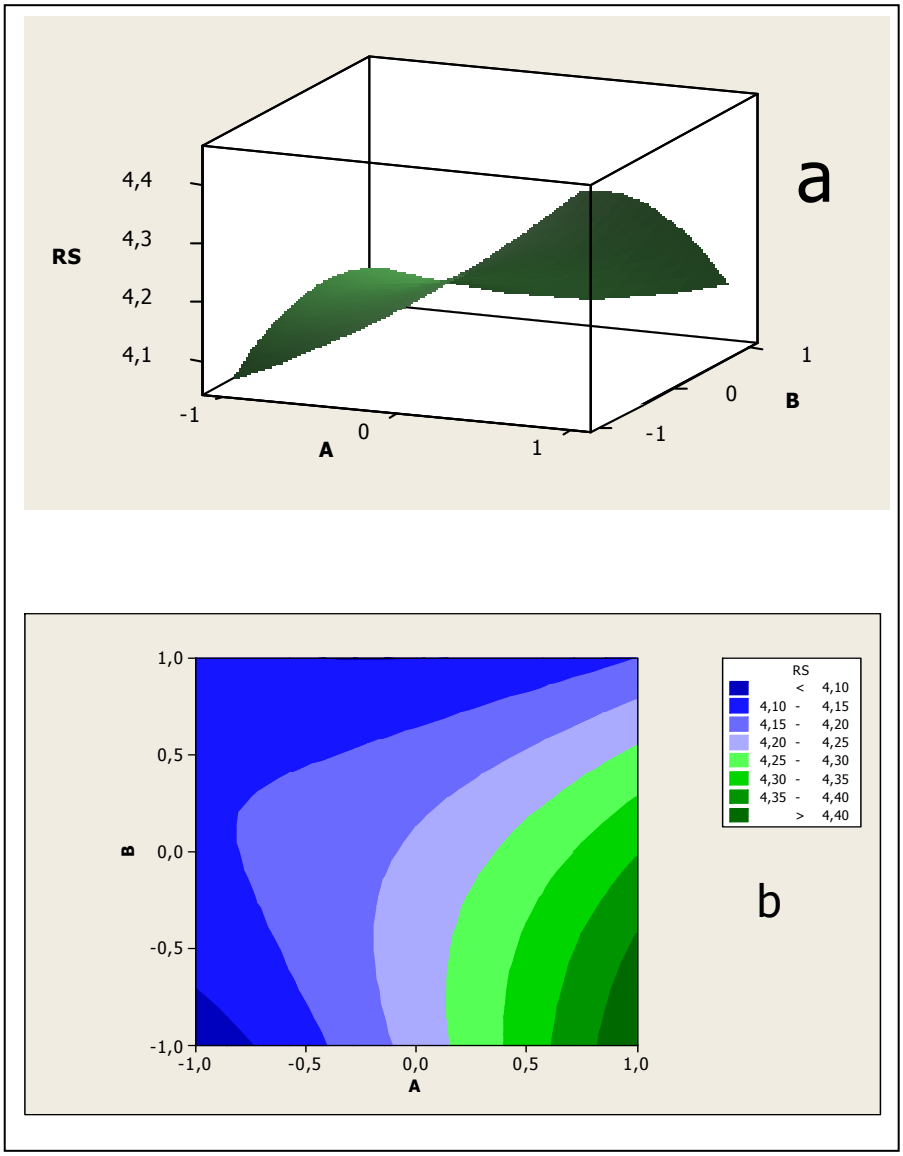


Tabela 27 - Análise de regressão da superfície de resposta para resíduo seco (RS).

P- probabilidade, SE- erro padrão do coeficiente.

Os valores dos coeficientes são dados em unidades codificadas.

Termo	Coeficiente	SE Coeficiente	P
Constante	4,20828	0,01803	0,000
A	0,10167	0,01772	0,001
B	-0,06000	0,01772	0,012
A*A	0,03603	0,02612	0,210
B*B	-0,04897	0,02612	0,103
A*B	-0,08750	0,02171	0,005
S =0, 04341	R^2 = 98,3%		

Através das análises realizadas nos dois gráficos da figura 11 (a, b) e da tabela 27 pôde-se observar que há um aumento significativo no teor de resíduo seco obtido nos extratos preparados com o aumento da quantidade de planta utilizada na preparação (M). Sendo sua relação demonstrada pela equação: RS = 4,20828 + 0,10167M - 0,1971M.C_e. (R^2= 98,30%).

Os resultados obtidos com o deslocamento dos níveis, para a resposta resíduo seco (RS) mostraram que ao aumentar a quantidade de planta utilizada na preparação do extrato fluido de sene houve um aumento do teor de RS. No entanto, o aumento na quantidade de planta não se faz necessário, pois o aumento ocorre apenas no teor de resíduo seco (RS), não acontecendo o mesmo para o teor de senosídeos B (SB), diminuindo assim a relação de SB/RS. Desta forma, com base nos dois planejamentos estatísticos de experimentos realizados pode-se estabelecer as seguintes condições operacionais: o método extrativo que apresentou melhor resultado foi o de decocção com agitação; a quantidade de planta utilizada na preparação dos extratos foi de 15 g; e a concentração de etanol de 60%.

5.4 ESTUDOS DE ADSORÇÃO

5.4.1 Lavagem das resinas poliméricas

Os resultados obtidos (tabela 28) no estudo da lavagem das resinas poliméricas demonstraram que o melhor resultado em termos de adsorção após a lavagem foi utilizando a lavagem com água purificada por 10 minutos em agitação por 3 vezes, apresentando porcentagens da quantidade adsorvida de derivados hidroxiantrancênicos de 35,2; 37,2; 38,1% para as resinas Amberlite XAD 761, XAD 7HP e XAD 1180N, respectivamente. Mediante estes resultados todas as análises de adsorção foram realizadas com a lavagem da resina polimérica com água purificada e posterior secagem por 48 horas em dessecador contendo sílica gel.

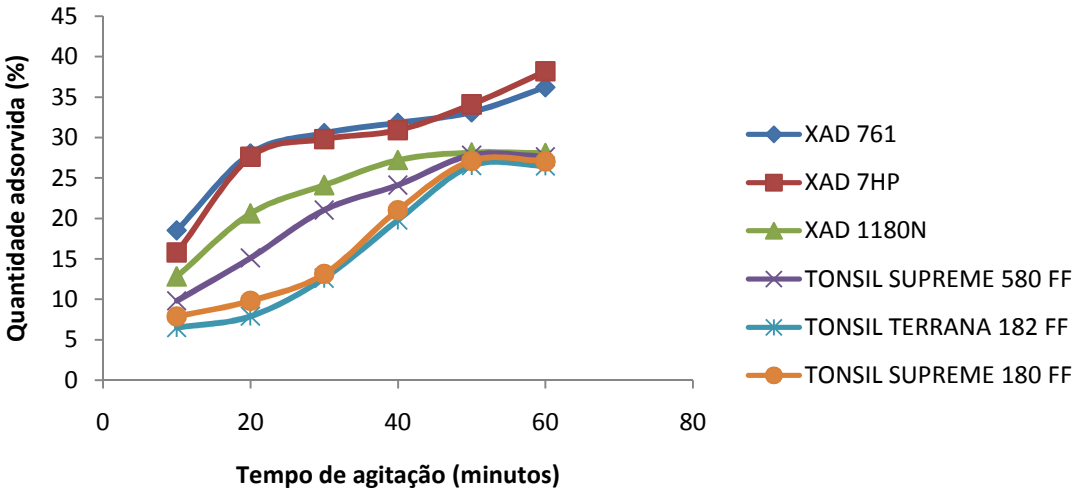
Tabela 28 - Resultados do estudo da lavagem das resinas poliméricas.

LAVAGEM	RESINA	RESULTADOS (%)			MÉDIA (%)	Desv. Pad.
Água Purificada	XAD761	35,6	35,0	35,1	**35,2**	**0,2625**
	XAD7HP	37,2	36,9	37,5	**37,2**	**0,2449**
	XAD1180N	38,5	37,8	38,0	**38,1**	**0,2944**
HCl 0,1 mol.L^{-1}	XAD761	26,2	25,8	25,5	**25,8**	**0,2867**
	XAD7HP	22,1	22,4	21,9	**22,1**	**0,2055**
	XAD1180N	21,7	22,8	22,7	**22,4**	**0,4967**
ETANOL	XAD761	26,0	26,4	26,7	**26,4**	**0,2867**
	XAD7HP	27,0	27,3	26,9	**27,1**	**0,1700**
	XAD1180N	24,5	24,3	24,0	**24,3**	**0,2055**

5.4.2 Estudo do tempo de contato

O gráfico da quantidade adsorvida média de derivados hidroxiantracênicos versus o tempo de agitação (figura 12) mostrou que os maiores valores da quantidade adsorvida para os adsorventes Amberlite XAD 7HP e Amberlite XAD 761, foram após 60 minutos de agitação. Já os adsorventes Amberlite XAD 1180N e as argilas apresentaram resultados maiores após 50 minutos de agitação.

Figura 12 - Gráfico do estudo do tempo de agitação no processo de adsorção.



5.4.3 Estudo dos fatores do processo de adsorção

O estudo dos fatores, utilizando a metodologia de planejamento fatorial 2^3 com ponto central, no processo de adsorção mostrou que um aumento nos níveis não afetou a quantidade adsorvida de derivados hidroxiantracênicos para todos os adsorventes. Os resultados, assim como a matriz de planejamento, estão apresentados na tabela 29.

Tabela 29 - Resultados do planejamento fatorial para os adsorventes

Fator			Quantidade adsorvida media (%)/ Desvio Padrão											
A	**B**	**C**	**XAD 7HP**	**Desv. Pad.**	**XAD 761**	**Desv. Pad.**	**XAD 1180N**	**Desv. Pad.**	**Tonsil 180 FF**	**Desv. Pad.**	**Tonsil 580 FF**	**Desv. Pad.**	**Tonsil 182 FF**	**Desv. Pad.**
-1	1	1	43,74	0,095	54,99	0,018	56,20	0,098	27,13	0,047	27,61	0,098	27,25	0,012
-1	1	-1	34,50	0,086	39,32	0,097	50,57	0,091	26,95	0,049	26,96	0,076	26,89	0,015
1	1	-1	37,72	0,045	40,53	0,085	58,21	0,015	26,91	0,015	27,25	0,072	26,98	0,019
-1	-1	1	42,34	0,054	36,51	0,081	52,18	0,018	27,05	0,009	26,91	0,025	26,50	0,091
0	0	0	39,80	0,051	37,51	0,071	36,08	0,091	26,98	0,072	28,05	0,049	27,15	0,011
-1	-1	-1	54,19	0,018	42,94	0,011	57,00	0,082	26,87	0,035	25,45	0,092	26,12	0,072
1	1	1	25,26	0,016	39,32	0,011	48,97	0,073	26,89	0,012	27,15	0,091	26,96	0,045
1	-1	1	51,18	0,023	42,14	0,013	35,31	0,049	26,97	0,019	27,08	0,007	26,85	0,076
1	-1	-1	35,31	0,012	33,70	0,079	60,22	0,041	26,96	0,087	26,85	0,005	26,98	0,012

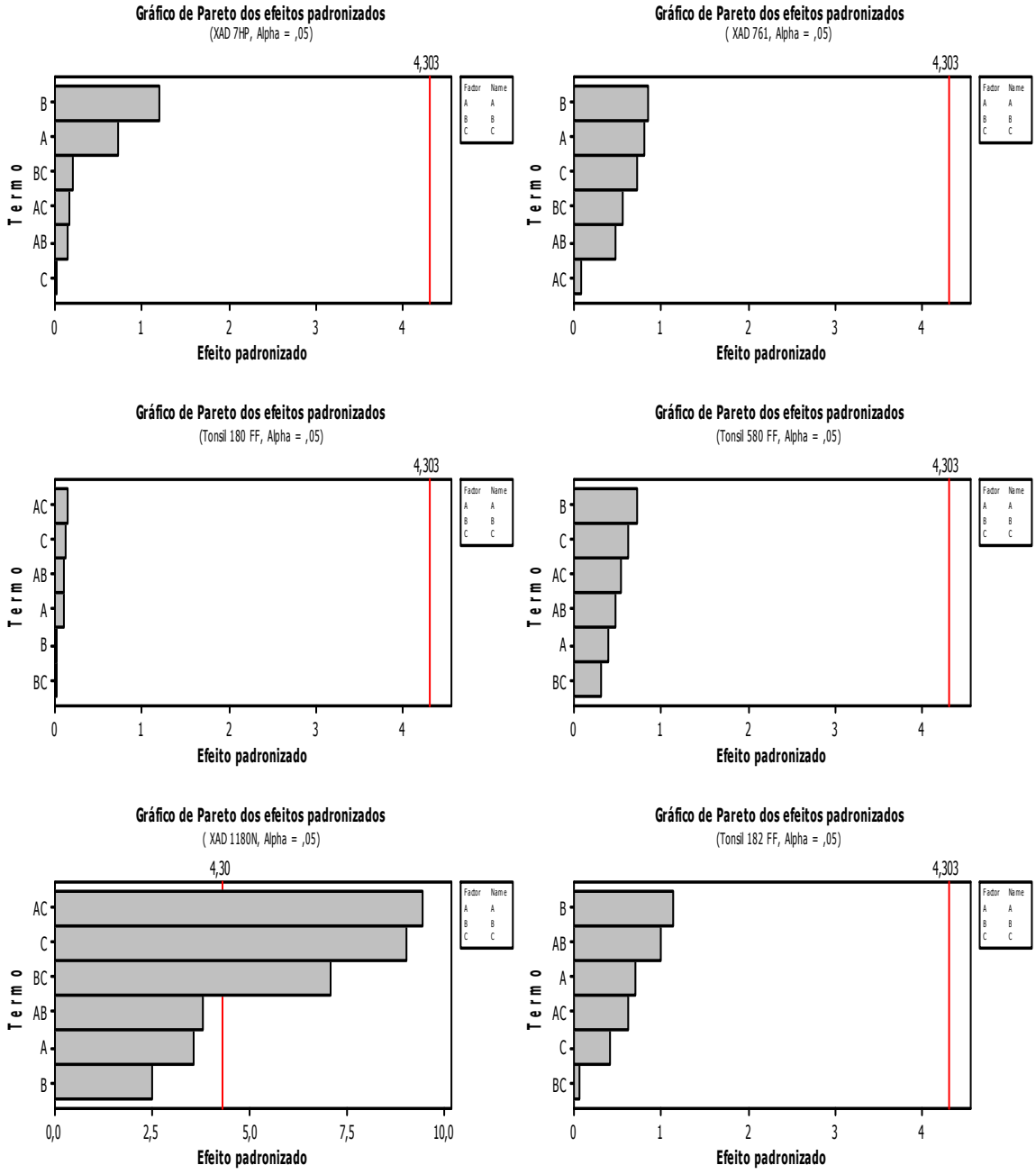
Através da análise estatística, em um nível de significância de $p < 0,05$, dos efeitos para cada resposta obtida de cada adsorvente pode-se observar que apenas para a resina polimérica Amberlite XAD 1180N algum fator mostrou efeitos significativos, sendo este o fator C (tempo de agitação), mostrando um efeito negativo, demonstrando assim que uma diminuição na quantidade do tempo de agitação utilizada melhorou o processo de adsorção dos derivados hidroxiantracênicos e também a interação do tempo de agitação com os outros fatores. A Amberlite XAD 1180N, além disto, foi a resina que apresentou melhor resultado de adsorção, apresentando resposta de 60,22%. A tabela 30 apresenta os efeitos principais e secundários e o valor de p calculado para cada efeito. Valores de p calculados para cada efeito menores que 0,05 são considerados efeitos significativos.

Tabela 30 - Efeitos principais e secundários

		XAD 7HP	XAD 761	XAD 1180N	Tonsil 180 FF	Tonsil 580 FF	Tonsil 182 FF
A*A	Efeito	-6,325	-4,517	-3,31	-0,0675	0,3500	0,2525
	p calculado	0,544	0,505	0,070	0,929	0,738	0,550
B*B	Efeito	-10,450	4,718	2,31	0,0075	0,6700	0,4075
	p calculado	0,354	0,489	0,129	0,992	0,539	0,369
C*C	Efeito	0,200	4,118	-8,34	0,0875	0,5600	0,1475
	p calculado	0,984	0,540	0,012	0,909	0,602	0,718
A*B	Efeito	-1,305	-2,713	3,52	-0,0725	-0,4350	-0,3525
	p calculado	0,895	0,677	0,063	0,924	0,681	0,425
A*C	Efeito	1,505	-0,502	-8,74	-0,0925	-0,4950	-0,2225
	p calculado	0,879	0,937	0,011	0,904	0,642	0,594
B*C	Efeito	-1,810	3,113	6,53	-0,0075	-0,2850	-0,0225
	p calculado	0,855	0,635	0,019	0,992	0,784	0,955

A avaliação dos efeitos foi analisada através do gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em p = 0,05 (figura 13). Todos os efeitos padronizados estão em valores absolutos. Todos os efeitos para a resposta quantidade adsorvida que apresentaram valores maiores que 4,303 (p = 0,05), que se localizam à direita da linha tracejada, foram significativos.

Figura 13 - Gráficos de Pareto dos efeitos padronizados para cada adsorvente.



As melhores condições de adsorção para cada adsorvente para a resposta estudada estão apresentadas na tabela 31.

Tabela 31 - Melhores combinações de níveis dos fatores no processo de adsorção

Adsorvente	XAD 7HP	XAD 761	XAD 1180N	Tonsil 180 FF	Tonsil 580 FF	Tonsil 182 FF
Quantidade de extrato (A)	75 mL	75 mL	125 mL	75 mL	100 mL	75 mL
Quantidade do adsorvente (B)	5 g	15 g	5 g	15 g	10 g	15 g
Tempo de agitação (C)	50 min.	70 min.	50 min.	70 min.	60 min.	70 min.

Estas condições foram utilizadas para a determinação das isotermas de adsorção para verificar qual melhor adsorvente assim como o estudo termodinâmico do processo. Outra observação realizada dos resultados obtidos com o planejamento fatorial é que a quantidade adsorvida de derivados hidroxiantracênicos nas resinas poliméricas apresentaram maiores resultados comparados com as argilas.

5.4.4 Estudos termodinâmicos do processo de adsorção

- Isotermas de adsorção

O estudo das isotermas de adsorção das resinas poliméricas foi realizado nas melhores combinações do processo adsortivo obtido no estudo do planejamento fatorial (tabela 31). Devido aos baixos valores da quantidade de adsorção obtidos com as argilas não foram realizados os estudos termodinâmicos do processo de adsorção para as argilas.

Aplicando o modelo de Langmuir aos dados experimentais obtidos para cada resina polimérica estudada nas diferentes temperaturas, figura 14, 15 e 16, foram obtidos os parâmetros do modelo q_m e K_a. Os parâmetros de Langmuir foram obtidos com o software Microsoft Excel®, com aplicação direta dos dados experimentais à equação 2. A tabela 32 apresenta os valores obtidos dos parâmetros de Langmuir para as resina poliméricas.

Figura 14 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 7HP

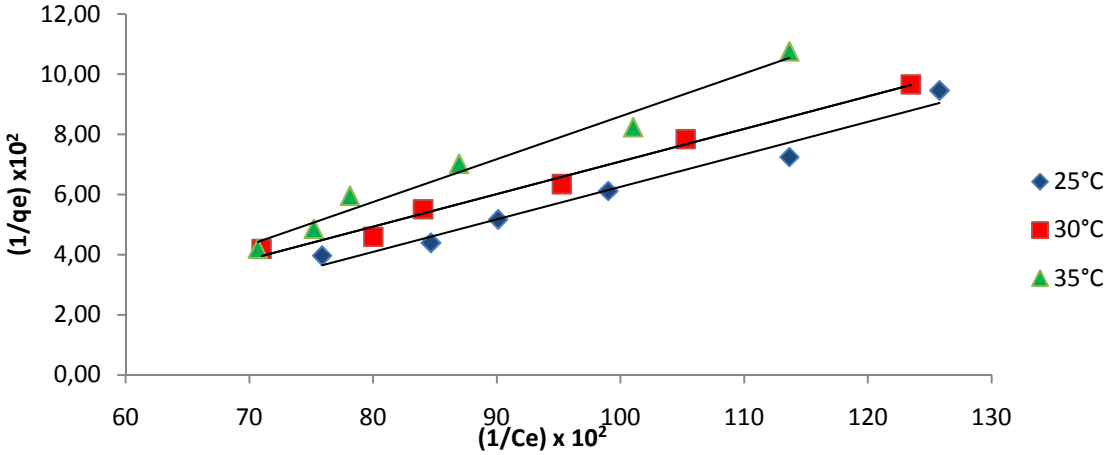


Figura 15 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 761

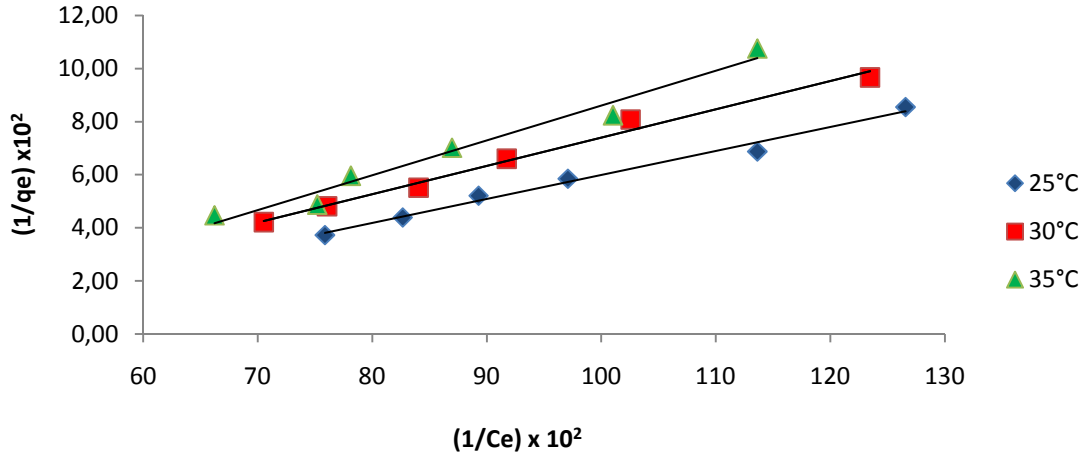


Figura 16 - Isotermas de Langmuir para a Amberlite XAD 1180N

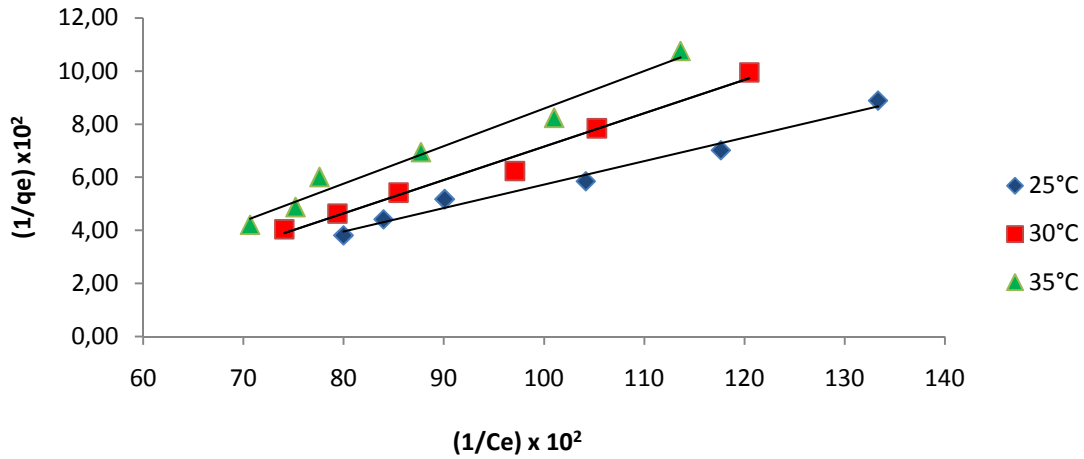


Tabela 32 - Parâmetros das isotermas de Langmuir para a adsorção de derivados hidroxiantracênicos em diferentes temperaturas.

Adsorvente	Temperatura	25°C	30°C	35°C
XAD 7HP	q_m (mg/g)	21,99	26,72	17,71
	K_a (L/g)	9,26	9,22	7,02
	r^2	0,9737	0,9874	0,9761
	Kr	0,035	0,035	0,045
XAD 761	q_m (mg/g)	25,26	30,78	22,16
	K_a (L/g)	9,71	9,39	7,62
	r^2	0,9801	0,9875	0,9719
	Kr	0,033	0,034	0,042
XAD 1180N	q_m (mg/g)	46,72	47,19	44,52
	K_a (L/g)	13,07	11,20	10,07
	r^2	0,9657	0,9664	0,9717
	Kr	0,025	0,029	0,032

Os valores dos parâmetros obtidos do modelo de Langmuir nas diferentes temperaturas mostraram que o processo de adsorção é favorável a adsorção dos derivados hidroxiantracênicos, pois todos os valores de parâmetro adimensional do modelo de Langmuir, Kr, ficaram entre 0 e 1. Os maiores valores da quantidade máxima de adsorção, q_m, para todas as resinas ocorreram na temperatura de 30°C, apresentando valores de 47,19; 30,78 e 26,72 mg/g para as resinas XAD 1180N, XAD 761 e XAD 7HP, respectivamente. O maior valor de q_m foi para a resina Amberlite XAD 1180N confirmando os resultados já obtidos no planejamento experimental. O modelo de isotermas de Langmuir se ajustou bem aos processos apresentando valores dos coeficientes de correlação próximos de 1, desta forma a adsorção do adsorvato no adsorvente ocorreu apenas como uma monocamada sobre a superfície do adsorvente.

Os mesmos dados experimentais também foram ajustados ao modelo da isoterma de Freundlich linearizada (equação 5). Os gráficos das isotermas de Freundlich linearizada estão apresentados nas figuras 17, 18, 19, através da análise da equação da reta linearizada obteve-se os parâmetros K_f e n para cada resina. A tabela 33 apresenta os valores dos parâmetros do modelo de isoterma de Freundlich obtidos nas diferentes temperaturas estudadas.

Tabela 33 - Parâmetros das isotermas de Freundlich para a adsorção de derivados hidroxiantracênicos em diferentes temperaturas.

Adsorvente	Temperatura	25°C	30°C	35°C
XAD 7HP	K_f (mg/g)	5,53	4,84	6,30
	n	0,36	0,38	0,41
	r^2	0,9224	0,9359	0,9075
XAD 761	K_f (mg/g)	5,14	4,80	11,04
	n	0,36	0,36	0,34
	r^2	0,9324	0,9182	0,9318
XAD 1180N	K_f (mg/g)	4,02	3,05	4,63
	n	0,34	0,35	0,34
	r^2	0,9271	0,9036	0,9251

Nas figuras 17, 18 e 19 estão os gráficos das isotermas de adsorção de Freundlich para as resinas poliméricas.

Figura 17 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 7HP

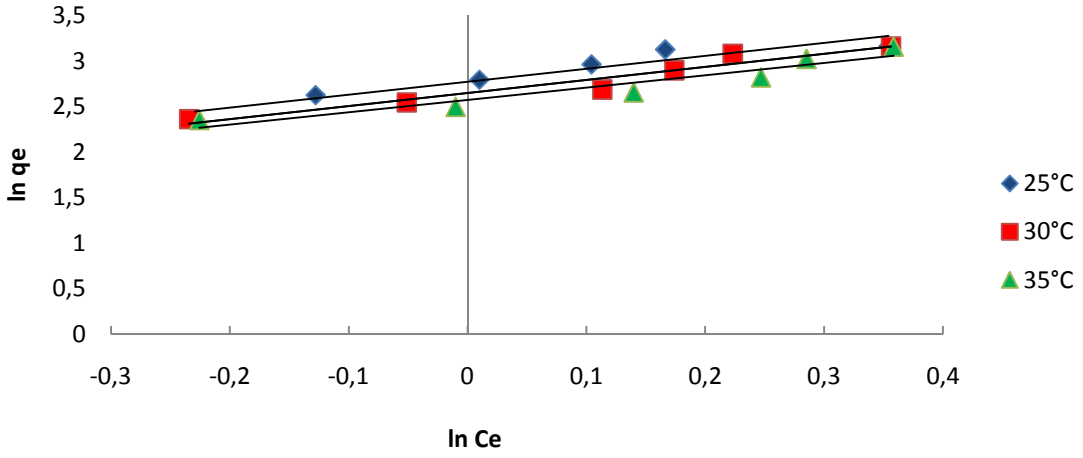


Figura 18 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 761

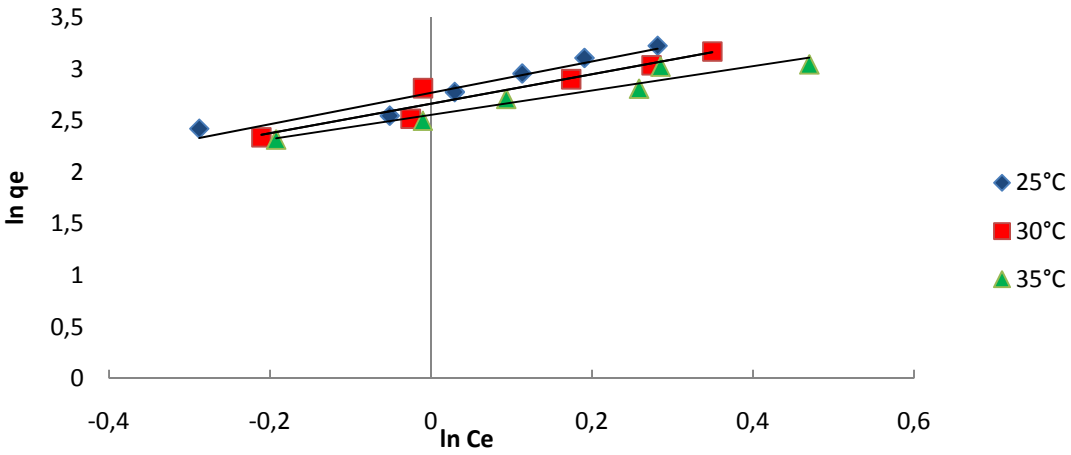
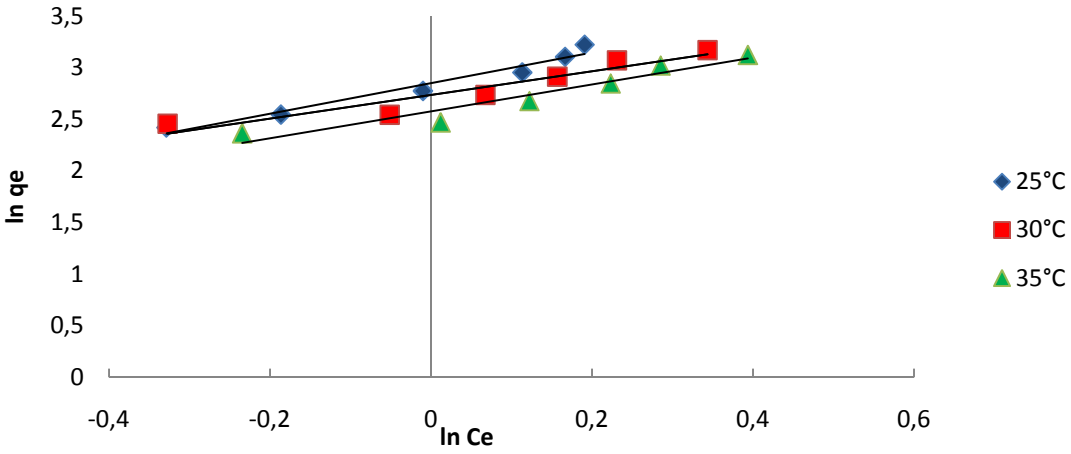


Figura 19 - Isotermas de Freundlich para a Amberlite XAD 1180N



A aplicação do modelo de Freundilich aos dados experimentais não se mostrou ajustado adequadamente, resultado que pode ser observado pela falta de ajuste do modelo nos gráficos das isotermas de Freundlich e pelos valores obtidos dos coeficientes de regressão linear obtidos nas diferentes temperaturas. Este resultado confirma uma adsorção monocamada previsto pelo modelo de Langmuir, já que o ajuste ao modelo de Freundlich propõe uma adsorção multicamada sobre a superfície do adsorvente.

- Estudo termodinâmico

Os valores da energia livre de Gibb's (ΔG), variação de entalpia e a entropia obtidos a partir da constante K_L do modelo de Langmuir para as diferentes temperaturas estudadas, estão apresentados na tabela 34. A variação de entalpia (ΔH**)** e a entropia foram obtidas através do coeficiente linear e coeficiente angular dos gráficos da ΔG versus a temperatura para cada resina.

Tabela 34 - Parâmetros termodinâmicos para a adsorção das resinas poliméricas

Adsorvente	**Temperatura (°C)**	**ΔH (kJ mol^{-1})**	**ΔS (kJ mol^{-1})**	**ΔG (kJ mol^{-1})**
XAD 7HP	25	24,39	- 0,047	-6,39
	30			-6,49
	35			-5,78
XAD 761	25	21,31	-0,044	-6,53
	30			-6,54
	35			-6,03
XAD 1180N	25	23,15	-0,049	-7,38
	30			-7,05
	35			-6,85

Os valores da variação de entalpia para todas as resinas apresentaram valores correspondentes a processos de adsorção física, ou seja, os derivados hidroxiantracênicos são adsorvidos na superfície através de forças fracas de Van der Walls. A energia livre de Gibb's para todas as resinas nas diferentes temperaturas estudadas apresentaram valores negativos o que confirma a facilidade no processo de adsorção e espontaneidade com alta preferência pelos derivados hidroxiantracênicos. Outra observação dos valores de ΔG é que ocorreu um decréscimo de -ΔG com o aumento da temperatura o que demonstra que a adsorção não é mais favorável em temperaturas mais altas.

Os resultados dos parâmetros termodinâmicos para as resinas estudadas se mostraram bastante semelhante, todas as resina tiveram valores de ΔH positivos com valores correspondentes a adsorção física e ΔG negativos demonstrando a espontaneidade do processo de adsorção nestes adsorventes estudados.

6 Conclusão

6. CONCLUSÃO

- A caracterização do material vegetal utilizado na otimização do processo de extração, foi condizente com a monografia farmacopêica para os parâmetros: análise granulométrica, determinação de água, cromatografia em camada delgada e determinação de derivados hidroxiantracênicos.

- O método analítico por espectrofotometria no visível atendeu aos parâmetros requeridos pela legislação vigente, apresentando a confiabilidade requerida, mostrando-se, dessa forma, como uma alternativa segura e de baixo custo para o doseamento de derivados hidroxiantracênicos no extrato fluido.

- A otimização do processo extrativo mostrou de forma racional uma alternativa rápida e viável para a preparação de extratos fluidos de *C. angustifolia*, que inclusive, devido a boa relação SB/ RS, poderão ser utilizados na preparação de outros derivados como o extrato seco**.**

- O estudo do processo de adsorção dos derivados hidroxiantracênicos mostrou que as resinas poliméricas foram melhores adsorventes frente às argilas, sendo a resina Amberlite XAD 1180N a que apresentou melhor resultado dentre todos os adsorventes estudados. Através da avaliação dos parâmetros termodinâmicos o processo de adsorção das resinas demonstrou ser espontâneo, de natureza física e favorável para adsorver os derivados hidroxiantracênicos em uma monocamada, de modo que estes são potenciais adsorventes em processos tecnológicos para obtenção de produtos farmacêuticos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos.

7 Perspectivas

7. PERSPECTIVAS

- Avaliar técnicas de desorção para obtenção de produtos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos.

- Caracterizar produto obtido da desorção.

- Realizar estudos para transposição dos processos de adsorção da escala de bancada para escala industrial.

Referências

REFERÊNCIAS

AL-ADHAL A. The effect of *Cassia angustifolia* (senna) leaves on the fasting blood sugar in a sample of mild diabetic Yemeni patients. **Yemeni journal for medical sciences**, 2009.

ALLEONI, L. R. F. et al . Isotermas de Langmuir e de Freundlich na descrição da adsorção de boro em solos altamente inteperizados. **Scientia Agrícola.** v. 55, n. 3, p. 379-387, 1998.

ATTAR A; LEMANN M; FERGUSON A, et al. Comparison of a low dose polyethylene glycol electrolyte solution with lactulose for treatment of chronic constipation. **Gut**. v. 44, p.226–230, 1999.

AUTORE, G. et al. Perfusion of rat colon with sennosides, rhein and rheinantrone. Concentration-related histamine release. **European Journal of Pharmacology**. v. 200, p. 97-99, 1990.

BARROS, B. et al. Recomendações para calibração em química analítica - parte I: fundamentos e calibração com um componente (calibração univariada). **Química Nova.** v. 25, no. 5, p.856-865, 2002.

BENAVIDES, S.H et al. The pigment of melanosis coli: a lectin histochemical study. **Gastrointestinal Endoscopy**. v. 46, 1997.

BEUBLER, E. et al. Prostaglandin-Mediated Action of Sennosides. **Pharmacology**. v.36 p.85-91, 1988.

BYERS, R.J. et al. Melanosis coli is associated with an increase in colonic epithelial apoptosis and not with laxative use. **Histopathology**.v. 30, p.160–164. 1997.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RE n° 899 de 29 de maio de 2003 – Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos.

BRASIL, JL. et al. Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de Cu (II) em batelada utilizando-se casca de nozes pecã como biossorvente. **Química Nova**. v. 30, p. 548-553, 2007.

BRIEJER MR, BOSMANS JP, VAN DAELE P, et al. The in vitro pharmacological profile of prucalopride, a novel enterokinetic compound. **European Journal Pharmacology**. v. 423, p.71–83, 2001.

BRITISH PHARMACOPOEIA- 2009. Department of health, social services and public safety, 2009.

CAMERON, J. Constipation related to narcotic therapy: A protocol for nurses and patients. **Cancer Nursing**. 1992.

CHAUBEY M; VIRENDRA P. K. Structure of a galactomannan from the seeds of *Cassia angustifolia* Vahl. **Carbohydrate Research.** v. 332, 439–444, 2001.

CHOUNG, S.R. et al. Factors Associated With Persistent and Nonpersistent Chronic Constipation, Over 20 Years. **Clinical Gastroenterology and Hepatology.** V. 20, N. 10, 2012.

COLLETE, V.L; ARAÚJO, C.L; MADRUGA, S.W. Prevalência e fatores associados à constipação intestinal: um estudo de base populacional em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, 2007. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 26, n 7, p. 1391-1402, jul, 2010.

CORNELL, S. A. et al. Comparison of three bowel management programs: During Rehabilitation of Spinal Cord Injured Patients. **Nursing Research**. 1973.

DERMARDEROSIAN, A. (coed.) et al. The Review of Natural Products - The most complete source of natural product information. St. Louis, USA: Wolters Kluwer Health, 2008.

DUKAS, L; WILLETT, W.C; GIOVANNUCCI E.L. Association between physical activity, fiber intake, and other lifestyle variables and constipation in a study of women. American **Journal of Gastroenterology**. v. 98, 2003.

EWE, K. et al. Influence of Senna, Fibre, and Fibre + Senna on Colonic Transit in Loperamide-Induced Constipation. **Pharmacology**. v.47, p.242-248, 1993.

EUROPEAN SCIENTIFIC COOPERATIVE ON PHYTOTHERAPY (ESCOP). Monographs: The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. 2 ed. Exeter, UK: European Scientific Cooperative on Phytotherapy and Thieme, 2003.

FABER, P; STRENGE-HESSE, A. Relevance of Rhein Excretion into Breast Milk. **Pharmacology**. v.36, p.212-220, 1988.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

FARMACOPÉIA PORTUGUESA 9ª edição, 2010.

FLEMING, V; WADE, W.E. A Review of Laxative Therapies for Treatment of Chronic Constipation in Older Adults. **The American Journal of Geriatric Pharmacotherapy**. v. 8, 2010.

FREITAS, P.A.M. Estudos de adsorção de di-2-piridil cetona saliciloilhidrazona (DPKSH) em resinas Amberlite XAD-2 e XAD-7. Extração de íons cobre em fase sólida envolvendo a XAD-7 modificada com DPKSH. São Paulo. Tese de Doutorado, IQ-USP**,** p. 14-47, 2007.

GARCIA-VILLAR, R. Evaluation of the effects of sennosides on uterine motility in the pregnant ewe. **Pharmacology**. V. 36, 1988.

GATTUSO, M; KAMM, M.A; Adverse effects of drugs used in the management of constipation and diarrhea. **Drug Safety**. v. 10, p. 47-65, 1994.

Geriatrics Patient handout. Does constipation ruin your day? What you eat, drink, and do can make a difference. **Geriatrics.** v. 60(5), 2005.

GODDING,EW. Laxatives and the special role of Senna. **Pharmacology**. v.36, p. 230-6, 1988.

GRIDER JR. et al. 5- Hydroxytryptamine4 receptor agonists initiate the peristaltic reflex in human, rat, and guinea pig intestine. **Gastroenterology**. V.115, P. 370–380, 1998.

HALL, K.R., EAGLETON, L.C., Acrivos, A. and Vermeulen, T. Pore- and solid-diffuion kinetics in fixed-bed adsorption under constant-pattern conditions.Ind. Eng. Chem. Fund. 5, 212-223, 1966.

HIGGINS, PD, JOHANSON, JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review**. American Journal of Gastroenterology**. v. 99(4) p. 750-9, 2004.

ILAVARASAN R. et al. Hepatoprotective effect of Cassia angustifolia vahl. **Indian journal of pharmaceutical sciences**. v. 63, p. 504-507, 2001.

JIN, JG. et al. Propulsion in guinea pig colon induced by 5-hydroxytryptamine (HT) via 5-HT4 and 5-HT3 receptors. **Journal Pharmacology Exp Ther**. V. 288, P. 93–97, 1999.

JING, H. et al. Equilibrium and thermodynamic parameters of adsorption of methylene blue onto rectorite. **Fresenius Environmental Bulletin,** Wuhan, vol.19, n. 11a, p. 2651- 2656, 2010.

JOHANSON JF, WALD A, TOUGAS G, et al. Effect of tegaserod in chronic constipation: A randomized, doubleblind, controlled trial. **Clinical Gastroenterology Hepatology**. v. 2, p. 796–805, 2004.

KAMM MA, MULLER-LISSNER S, TALLEY NJ, et al. Tegaserod for the treatment of chronic constipation: A randomized, double-blind, placebo-controlled multinational study. **American Journal of Gastroenterology**. v. 100, p. 362-372, 2005.

KHAN, N.A; SRIVASTAVAA, A. Antifungal activity of bioactive triterpenoid saponin from the seeds of Cassia angustifolia. **Natural Product Research** . v. 23, 2009.

KRUMBIEGEL, G.; SCHULZB, H.U. Rhein and Aloe-Emodin Kinetics from Senna Laxatives in Man. **Pharmacology.** v. 47, p. 120-124, 1993.

KYRIAKOPOULOS, G. et al. Adsortion of pesticides on porous polymeric adsorbents.**Chemical Emgineering Science**, v. 60, p. 1177-1186, 2005.

LAGHARI, A.Q. et al. Extraction, Identification and Antioxidative Properties of the Flavonoid-Rich Fractions from Leaves and Flowers of *Cassia angustifólia.* **American Journal of Analytical Chemistry**. v. 2, p. 871-878, 2011.

LANGMUIR, I. (1918) The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. J. Am. Chem. Soc. 40, 1361-1403

LEUNG, F.W. Etiologic Factors of Chronic Constipation Review of the Scientific Evidence. **Digestive Diseases Science**. v. 52, p. 313–316, 2007.

MAMMOLA, C.L. et al. Role of cassia angustifolia on hepatic toxicity in Wistar Rats. **Italian journal of anatomy and embryology**. v . 116, 2011.

MENGS, U. Toxic effects of sennosides in laboratory animals and in vitro. **Pharmacology**. v. 36, p 180-187, 1988.

MISHALANG, H. Seven years experience with idiopathic unremitting chronic constipation. **Journal of pediatric Surgery**. v. 24, p. 360-362, 1989.

MITTY, R.D. Initial description of gastric melanosis in a laxative-abusing patient. **American Journal of Gastroenterology**. v.92, p. 707-708, 1997.

MONTGOMERY, D.C. **Introdução ao controle estatístico da qualidade**. LTC. Rio de Janeiro, RJ. págs. 365-428. 4ª Ed. 2004.

MORGADO, A.F. Caracterização e propriedades tecnológicas de uma argila esmectítica de Santa Catarina, 1998, 181 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade de São Paulo - Escola Politécnica,São Paulo - SP.

MUGIE, S.M; BENNINGA, M.A; DI LORENZO, C. Epidemiology of constipation in children and adults: A systematic review. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.** v. 25, 3–18, 2011.

MURRAY, H.H. Traditional and new applications for kaolin, smectite andpalygorskite: a general overview. **Applied Clay Science**, vol. 17, p 207-221, 2000.

NASCIMBENI, R. et al. Constipation, anthranoid laxatives, melanosis coli, and colon cancer: a risk assessment using aberrant crypt foci. **Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention.** v.11, p753-757, 2002.

NUSKO, G. et al. Melanosis coli a harmless pigmentation or a precancerous condition? **Z Gastroenterology**. v. 35, 313-318, 1997.

NUSKO, G. et al. Anthranoid laxative use is not a risk factor for colorectal neoplasia: results of a prospective case control study. **Gut.** v.46, p.651–655, 2000.

PAHOR, M. et al. Age and laxative use in hospitalized patients. **Aging**. v. 7, p. 128-35, 1995.

PEPPAS, G. et al. **Epidemiology of constipation in Europe and Oceania: a systematic review.** BMC Gastroenterology. p. **8**:5, 2008.

PERON, A.P; MARCOS, M.C; CARDOSO, S.C; VICENTINI, V.E.P. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *Camellia sinensis* L. e *Cassia angustifolia vahl* em sistema teste vegetal. **Arquivos de Ciências da Saúde.** v. 12, p.51-54, 2008.

PERS, M; PERS, B. A crossover comparative study with two bulk laxatives. **Journal of International Medical Research**. v.11, p.51–53, 1983.

RAIMONDI, F. et al. Reactive nitrogen species modulate the effects of rhein, an active component of senna laxatives, on human epithelium in vitro. **Journal of Pediatric Gastroenerology Nutrition.** v. 34, p. 529–534, 2002.

ROHM AND HAAS COMPANY Ficha Técnica PDS 0529A da Amberlite XAD7HP, São Paulo, 2006

ROHM AND HAAS COMPANY Ficha Técnica IE-624EDS da Amberlite XAD1180N, São Paulo, 2007

ROHM AND HAAS COMPANY Ficha Técnica PDS 0103A da Amberlite XAD761, São Paulo, 2008

RUTHVEN, D.M. Encyclopedia of Separation Technology. In: Kirk-Othmer Encyclopedia. John Wiley & Sons, New York, vol. 1, 129p, 1997.

SANT' ANNA, A. et al. Constipation in School-Aged Children at Public Schools in Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**: - v. 29, p. 190-193, agosto de 1999.

SCHULTZE, W. et al. Volatile Constituents of the Dried Leaves of Cassia angustifolia and C. acutifolia (Sennae Folium). **Planta Med**. v. 62, p. 540-543, 1996.

SHANMUGASUNDARAM, R. et al. Hepatoprotective activity of ethanol extracts of *Clitoria ternatea* and *Cassia angustifolia* Vahl leaf against CCl_4 induced liver toxicity in rats. **International Research Journal of Pharmacy**. v.1, 201-205, 2010.

SILVA C.R.. et al. Absence of mutagenic and citotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2004.

SILVA C.R. et al. Assessment of antimutagenic and genotoxic potential of Senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) aqueous extract using in vitro assays. **Toxicology in Vitro**. v. 22, p.212–218, 2008.

SOBRINHO, T.J.S.P. et al. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.44, 2008.

SOYUNCU, S; CETE, Y; NOKAY, A.L. Portal vein thrombosis related to *Cassia angustifolia.* **Clinical Toxicology**. v. 46. p. 774–777, 2008.

SOUZA, C.L. NBR ISO/IEC 17025 : 2001 Requisitos gerais para competência de laboratórios de calibração e ensaios. Porto Velho, 2005.

Sud Chemie do Brasil Ltda. Ficha técnica de produtos. 2011

SWANSTON, S.K. et al. Evaluation of traditional plant treatments for diabetes: Studies in streptozotocin diabetic mice. **Acta diabetologica**. v. 26, p. 51-55, 1989.

TEIXEIRA. et al. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno**. Química Nova.** V. 24, n. 6, p. 808-818, 2001.

United States Pharmacopeia- National Formulary (USP-NF). v. 35. 2012.

VASILJEVIC, P et al. Cytotoxic activity [of benzene and methanolic] extract of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) HeLa cells. AGRIS. p. 857-863, 2010.

VIEGAS, C. et al. aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. **Química Nova**. v. 29, no. 6, p. 1279-1286, 2006.

VITALONE, A. et al. *Cassia angustifolia* extract is not hepatotoxic in an in vitro and in vivo study. **Pharmacology**. v. 88, no. 5-6, 2011.

WALTENBERGER, B. et al. Transport of sennosides and sennidines from *Cassia angustifolia* and *Cassia senna* across Caco-2 monolayers – an in vitro model for intestinal absorption. **Phytomedicine,** v. 15, p. 373–377, 2008.

WICHTL, M. **Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals**: a handbook for practice on a scientific basis. 3 ed. Stuttgart, Germany: Medpharm GmbH Scientific Publishers, 2004.

XIAO, Z.L. et al. Role of Progesterone Signaling in the Regulation of G-Protein Levels in Female Chronic Constipation. **Gastroenterology**. v. 128, p. 667–675, 2005.

ZHAO, Y.F. et al. Epidemiology of functional constipation and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome: the Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China (SILC). **Aliment Pharmacology Ther**. v. 34: p. 1020–1029, 2011.

ZIEGENHAGEN DJ. et al. Senna vs. bisacodyl in addition to Golytely lavage for colonoscopy preparation--a prospective randomized Trial. **Zeitschrift fur Gastroenterologie**. v. 30, p. 17-9, 1992.

Apêndices

APÊNDICES

APÊNDICE A – Resumo do Artigo intitulado “Otimização das condições de extração de senosídeos B por soluções hidroetanólicas das folhas de *Cassia angustifolia* Vahl empregando planejamento fatorial” submetido a Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplica.

APÊNDICE B – Resumo do artigo intitulado “Avaliação de resinas e argilas como adsorventes de derivados hidroxiantracênicos em extrato de *Cassia angustifolia* vahl” a ser submetido a Revistas Brasileira de Plantas Medicinais.

APÊNDICE A

OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DE SENOSÍDEOS B POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS DAS FOLHAS DE *Cassia angustifolia* Vahl EMPREGANDO PLANEJAMENTO FATORIAL

OPTIMIZATION OF EXTRACTION CONDITIONS SENOSÍDEOS B BY SOLUTIONS HYDROETHANOLIC FOR LEAVES OF *Cassia angustifolia* Vahl. USING FACTORIAL DESIGN

Alexandre de Almeida Lopes Severo[1], Thiago Pessoa de Souza[2], Larissa Araújo Rolim[1], José Lamartine Soares Sobrinho[1], Flávia P. Morais de Medeiros[3], Pedro José Rolim Neto[1]*

1. Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
2. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
3. Faculdade Pernambucana de Saúde.

*Autor correspondente: Pedro José Rolim Neto - Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, s/nº - Cidade Universitária - CEP: 50740-521 - Recife - PE, Brasil - Telefone / Fax: (81) 3272-1383 - E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

RESUMO

Cassia angustifolia Vahl é um arbusto alto, originários da Arábia, amplamente cultivado na Índia e largamente utilizado como laxativo na constipação aguda e em casos em que a defecação é aconselhável, como após intervenção cirúrgica antes ou depois de operação abdominal, sendo empregado na forma de pós, xaropes, comprimidos e cápsulas. Como estas formulações geralmente são preparadas à partir de derivados do extrato líquido, torna-se fundamental para a qualidade e eficácia que este tenha seu processo de extração otimizado. O presente trabalho teve por objetivo determinar as melhores condições de extração, por soluções hidroetanólicas, das folhas de *Cassia angustifolia*, empregando planejamento fatorial completo com ponto central 2^3 (três fatores e dois níveis) onde os níveis dos fatores foram codificados como -1 (baixo), 0 (ponto central) e 1 (alto), e metodologia de superfícies de respostas, para avaliar a influência do solvente, da quantidade de planta e do método de extração sobre o teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B (SB) e sobre o resíduo seco (RS) nos extratos líquidos preparados. Foram realizados planejamentos experimentais completos, sendo um realizado pelo deslocamento dos níveis, após a análise do primeiro planejamento. Após a análise da superfície de resposta do planejamento com os níveis deslocados encontrou-se a faixa de melhor extração dos derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B com a melhor relação SB/RS, utilizando o solvente etanol/água a 60% V/V, 15 gramas da planta, e extração com aquecimento e agitação.

Palavras-chave: Planejamento Fatorial, Extração, Cassia angustifólia, Otimização de Processo

APÊNDICE B

AVALIAÇÃO DE RESINAS E ARGILAS COMO ADSORVENTES DE DERIVADOS HIDROXIANTRACÊNICOS EM EXTRATO DE *Cassia angustifolia* VAHL

Alexandre de Almeida Lopes Severo[1], Thiago Pessoa de Souza[2], Larissa Araújo Rolim[1], José Marcondes Mariano Bezerra[1], José Lamartine Soares Sobrinho[1], Flávia P. Morais de Medeiros[3], Pedro José Rolim Neto[1]*.

1 Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
2 Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.
3 Faculdade Pernambucana de Saúde.

*Autor correspondente: Pedro José Rolim Neto - Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, s/nº - Cidade Universitária - CEP: 50740-521 - Recife - PE, Brasil - Telefone / Fax: (81) 3272-1383 - E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

RESUMO

Cassia angustifolia Vahl é um arbusto amplamente cultivado na Índia e largamente utilizado como laxativo na constipação aguda e em casos em que a defecação com fezes moles é aconselhável, sendo empregado em formulações como pós, xaropes, comprimidos e cápsulas. Algumas destas formulações, devido a limitações de tamanho e posologia precisam ser preparadas à partir de produtos concentrados em ativos através de processos como a adsorção. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar diversas resinas e argilas como potenciais adsorventes em processos tecnológicos para obtenção de produtos farmacêuticos com alto teor de derivados hidroxiantracênicos. O estudo dos adsorventes indicou as resinas como os melhores adsorventes frente às argilas. A avaliação dos parâmetros termodinâmicos demonstrou que o processo de adsorção é espontâneo (ΔG -), de natureza física (8 kJ $mol^{-1} < \Delta H <$ 25 kJ mol^{-1}) e favorável ($0 < Kr < 1$) para adsorver os derivados hidroxiantracênicos em uma monocamada (ajustado ao modelo de Langmuir, com todos os $r^2 \geq 0{,}9657$).

Palavras-chave: *Cassia angustifolia*, resinas, argilas, adsorção.

Anexo

ANEXO A – Submissão do artigo de otimização da extração para a Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada

Todos | Pesquisar | Por Edição | Por Autor | Por Título | Busca Avançada

Home | Arquivo | Submissão | Corpo Editorial | Instrução aos Autores | Sobre

Home > Usuário > Autor > Submissões > #2821 > Resumo

#2821 Sumário

RESUMO | AVALIAÇÃO | EDIÇÃO

Submissão

Autores	Pedro José Rolim-Neto
Título	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DE SENOSÍDEOS B POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS DAS FOLHAS DE Cassia angustifolia Vahl EMPREGANDO PLANEJAMENTO FATORIAL.
Documento Original	2821-10436-1-SM.DOC 2013-02-05
Doc. Sup.	Nenhum(a) INCLUIR DOCUMENTO SUPLEMENTAR
Submetido por	Pedro José Rolim-Neto
Data de submissão	fevereiro 5, 2013 - 11:27
Seção	Artigos Originais / Original Articles
Editor	Nenhum(a) designado(a)

Situação

Situação	Aguardando designação
Iniciado	2013-02-05
Última alteração	2013-02-05

Metadados da Submissão

EDITAR METADADOS

Autores

Nome	Pedro José Rolim-Neto
Instituição	Universidade Federal de Pernambuco
País	Brasil
Resumo da Biografia	Graduado em Farmácia pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) em 1982, obtendo habilitação em Indústria em 1983 pela mesma Universidade. Mestre em Ciências Farmacêuticas, em 1988, pela UFPE. Obteve o título de Especialista em Farmácia Industrial, (1989), Diploma de Estudos Aprofundados (1990) e o Doutorado (de 1988 a 1992) pela Universidade de Montpellier I, na França. Participou do curso promovido pela Food and Drug Administration (FDA) sobre Boas Práticas de Fabricação para Produtos Farmacêuticos, na Universidade de Puerto Rico, em San Juan em 2001. Desenvolve pesquisa para diversas Indústrias Farmacêuticas há 26 anos. Atualmente é professor adjunto da UFPE, Coordenador do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) e Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPE. Atua na área de Tecnologia Farmacêutica, obtenção de formas farmacêuticas clássicas e sistemas de vetorização de fármacos de origem natural e sintética.

Contato Principal para correspondência.

Título e Resumo

Título	OTIMIZAÇÃO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO DE SENOSÍDEOS B POR SOLUÇÕES HIDROETANÓLICAS DAS FOLHAS DE Cassia angustifolia Vahl EMPREGANDO PLANEJAMENTO FATORIAL.
Resumo	Cassia angustifolia Vahl é um arbusto alto, originário da Arábia, amplamente cultivado na Índia e largamente utilizado como laxativo na constipação aguda e em casos em que a defecação é aconselhável, como após intervenção cirúrgica antes ou depois de operação abdominal, sendo empregado na forma de pós, xaropes, comprimidos e cápsulas. Como estas formulações geralmente são preparadas à partir de derivados do extrato líquido, torna-se fundamental para a qualidade e eficácia que este tenha seu processo de extração otimizado. O presente trabalho teve por objetivo determinar as melhores condições de extração, por soluções hidroetanólicas, das folhas de Cassia angustifolia, empregando planejamento fatorial completo com ponto central 2³ (três fatores e dois níveis) onde os níveis dos fatores foram codificados como -1 (baixo), 0 (ponto central) e 1 (alto), e metodologia de superfícies de respostas, para avaliar a influência do solvente, da quantidade de planta e do método de extração sobre o teor de derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B (SB) e sobre o resíduo seco (RS) nos extratos líquidos preparados. Foram realizados planejamentos experimentais completos, sendo um realizado pelo deslocamento dos níveis, após a análise do primeiro planejamento. Após a análise da superfície de resposta do planejamento com os níveis deslocados encontrou-se a faixa de melhor extração dos derivados hidroxiantracênicos expressos em senosídeo B com a melhor relação SB/RS, utilizando o solvente etanol/água a 60% V/V, 15 gramas da planta, e extração com aquecimento e agitação.

Indexação

Área e sub-área do Conhecimento Acadêmico	Ciências Farmacêuticas; Indústria Farmacêutica

Usuário

Logado como...
pedrorolim

- Meus periódicos
- Perfil
- Sair do Sistema

Autor

Submissões

- Ativo (5)
- Arquivo (11)
- Nova Submissão

Informações

- Para Leitores
- Para Autores
- Para Bibliotecários
- Ajuda do Sistema
- Sistema Eletrônico de Editoração de Revistas

Esta obra está licenciada sob uma Licença Creative Commons

Classificação de Assunto	—
Palavras-chave	Planejamento Fatorial; Extração; Cassia angustifólia; Otimização de Processo
Cobertura Geo-espacial	—
Cobertura Cronológica ou Histórica	—
Características da amostra da pesquisa	—
Tipo, método ou ponto de vista	—
Idioma	pt

Agências de Financiamento

Agências	—

Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada © 2005 – 2012