



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

WILLIANA TÔRRES VILELA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE
DE *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi PARA TRATAMENTO DA DOR E DE
DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS**

Recife

2020

WILLIANA TÔRRES VILELA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE
DE *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi PARA TRATAMENTO DA DOR E DE
DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador(a): Prof^a. Dra. Rosali Maria Ferreira da Silva.

Coorientador: Prof^o. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior.

Recife

2020

Catálogo na fonte
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4-1790

V699d Vilela, Williana Tôres
Desenvolvimento tecnológico de formas farmacêuticas à base de
Varronia multispicata (cham.) borhidi para tratamento da dor e de
distúrbios inflamatórios / Williana Tôres Vilela. – 2020.
147 f.: fig.; tab.

Orientadora: Rosali Maria Ferreira da Silva.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós-Graduação em
Ciências Farmacêuticas. Recife, 2020.
Inclui referências e apêndice.

1. Boraginaceae. 2. Fitoterapia. 3. Compostos fenólicos. 4.
Formulações Farmacêuticas. 5. Controle de qualidade. I. Silva, Rosali
Maria Ferreira da (Orientadora). II. Título.

615.1 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2020-190)

WILLIANA TÔRRES VILELA

**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE
DE *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi PARA TRATAMENTO DA DOR E DE
DISTÚRBIOS INFLAMATÓRIOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 27/08/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Rosali Maria Ferreira da Silva (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^o. Dr. Pedro José Rolim Neto (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Larissa Araújo Rolim (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Dedico esse trabalho a minha mãe, Ana Lúcia, e a minha irmã, Anny Tôres.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me deu oportunidade de dar mais um passo em minha jornada profissional/acadêmica e por tanto crescimento pessoal durante esse tempo. Agradeço a Ele por nunca ter me desamparado, por ter me dado força, saúde e por mostrar-me, dia-a-dia, que tudo tem um tempo certo para acontecer. E assim aconteceu, Agosto de 2020, foi o mês escolhido para conclusão de mais esse desafio, para que muitos outros possam chegar. Obrigada por tanto, meu Deus! Sua presença foi e sempre será viva e constante em meu caminhar.

Agradeço à minha mãe, Ana Lúcia, por ser minha grande incentivadora e grande exemplo de mulher. Ela caminha ao meu lado, me apóia em tudo, ela simplesmente está lá, no bom e no ruim, nos obstáculos e nas vitórias. Ela é presença mesmo na distância. Ela é colo, ela é lar. Esse sonho realizado é nosso, mãe!

À minha irmã, Anny. Ela que também é presença mesmo na distância. Ela é força e zelo, é a que me põe foco, que fala a realidade “nua e crua”. Ela, simplesmente, é sinônimo de companheirismo. Sou muito abençoada por ter mais uma mulher forte presente em minha vida. Obrigada por estar comigo em mais esse tamanho desafio!

Ao falar de família, a palavra gratidão torna-se pequena diante do tanto que devo à minha avó, meus tios e primos. Minha pequena, mas tão grande família, no amor. Eles são os responsáveis por ser quem eu sou e por todos os passos que dei até então. Agradeço aos meus tios/padrinhos, Vanuzia e Nado, por, simplesmente, serem exemplos de pais, de casal e de profissionais. Meus tios cumprem o verdadeiro papel de padrinho/madrinha. Eles são presença em todos os momentos. São sinônimo de dedicação e amor. Tudo ficou mais fácil e leve pelo acolhimento diário de vocês. Obrigada por tudo, meus amores!

À Prof^a. Dr^a. Rosali, por, mais uma vez, ter me acolhido como orientanda, assim como foi lá atrás, em 2014, como aluna de Iniciação Científica. Ela exerce, verdadeiramente, o papel de orientadora, não medindo esforços para dar o melhor direcionamento para o desenvolvimento dos projetos e atividades extras. Rosali tornou a relação aluno-orientador simples e leve e, assim, tornou-se também amiga. Ela sempre acreditou em mim muito mais do que eu mesma. Ela é escuta, é exemplo de mãe, de filha e de profissional. Muito obrigada, de coração, por tudo!

Ao Prof. Dr. Pedro Rolim, pela oportunidade de, novamente, poder fazer parte do grupo do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM), agora diante de uma nova

perspectiva, proporcionando-me novas experiências e possibilidade de aumento da minha bagagem de conhecimento na área da pesquisa científica.

À todos os pesquisadores do LTM, que, de alguma forma contribuíram para a conclusão do meu mestrado, seja de forma prática, trocas de ideia e apoio em diversos momentos. Agradeço em especial a Adriana, Alessandra, Aline, Beatriz, Caio, Débora, Emerson, Larissa Morgana, Laysa, Lidiany e Thâmara.

O mestrado no LTM também agregou à minha vida três pessoas maravilhosas, que foram fundamentais em toda essa jornada. Arisa foi minha parceira de risadas, de distração nos almoços, de conversas aleatórias, foi uma amiga sem igual. Nós também passamos por vários altos e baixos em nossas pesquisas, choramos e nos desesperamos, mas estávamos lá, a apoiar uma à outra. Ilka é uma das pessoas mais prestativas que conheci no LTM, sempre disposta a escutar, a ajudar, se fazendo presente em diversos momentos, tornando-se muito especial. Stefáni foi o anjo Amazonense que surgiu na minha vida para agregar, ganhando minha admiração e me ajudando muito além da pesquisa. Obrigada, amigas! Obrigada por me ensinarem tanto!

Durante essa experiência também tive a oportunidade de voltar a conviver mais tempo com uma das minhas melhores amigas, Pollyne. Ela esteve presente em vários bons momentos da minha vida, desde quando éramos pequenas, e esteve presente, de perto, em mais essa etapa. Pollyne é amiga de longas datas, ela é parceira e está junto em todas. Ela, mais uma vez, me socorreu no desespero e foi essencial. Obrigada, Polly!

Agradeço a todos meus bons e velhos amigos (Alice Brayner, Amanda Mariz, Déborah Lima, Eduardo Furetti, Francielly Sabino, Henrique Santiago, Milena Melo, Stefane Vasconcelos, Thayse Bezerra, Tatyana Galvão e Vanessa Soares). Também agradeço as minhas queridas amigas de apê (Fernanda Costa, Magda Souza, Marciana Cordeiro) e a várias pessoas que foram bastante importantes durante o processo de experimentos e escrita (Ana Klarissa, Dayvid Batista, Mirella Yasmim, Paulo Serra). Todas essas, que no perto e no longe, vibram junto comigo.

Agradeço também aos pesquisadores parceiros da Universidade Federal do Pará (UFPA), Prof. Dr. Milton Nascimento, a Prof^a Dr^a. Consuelo Yoshioka, ao meu orientador Prof. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior e a todos os alunos de mestrado e doutorado envolvidos, que deram início aos estudos com *Varronia multispicata*, proporcionando o surgimento do meu projeto de pesquisa e também a realização de testes essenciais no controle de qualidade e atividade farmacológica dos produtos obtidos.

Ao Núcleo de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos, Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais e o Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético, que auxiliaram na execução de alguns testes essenciais para a conclusão dessa pesquisa. Incluindo também aos agradecimentos, a Rishon Perfumes e Cosméticos do Brasil® e a Farmácia Escola Carlos Drummond de Andrade (UFPE) que realizaram doações de excipientes.

Enfim, agradeço por tantas outras pessoas que a vida colocou em meu caminho durante esse período e que contribuíram de diversas formas para a realização e conclusão desse trabalho.

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar, mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota” (CALCUTÁ, [19--]).

RESUMO

A espécie vegetal, *Varronia multispicata*, utilizada popularmente no tratamento de doenças respiratórias e de pele, teve sua atividade anti-inflamatória e antinociceptiva comprovada recentemente. Assim, o presente estudo objetivou desenvolver tecnologicamente formas farmacêuticas à base de *V. multispicata* para o tratamento da dor e da inflamação. Realizou-se a caracterização físico-química da droga vegetal, extrato aquoso e extrato seco liofilizado, conforme Farmacopeia Brasileira (FB) 6ª edição. Também foram desenvolvidas três formulações e realizados os controles de qualidade aplicáveis. As folhas de *V. multispicata* foram coletadas no município de Castanhal-PA e a droga vegetal obtida foi classificada, quanto à granulometria, como pó semifino. Foram obtidos resultados dentro dos parâmetros exigidos pela FB (1,32% de matéria estranha; 8,51% de perda por dessecação e 10,39% equivalente a cinzas totais). O extrato aquoso (1:10, p/v), também se apresentou conforme determinações da FB, com pH 7,13; densidade relativa igual a 1,0058 g/mL e resíduo seco equivalente a 2,14%. Já o extrato seco liofilizado apresentou solubilidade em água e sorbitol, 3% de umidade e, por Microscopia Eletrônica de Varredura, mostrou morfologia indefinida e irregular. Na triagem fitoquímica foi verificada a presença de compostos fenólicos, demonstrando, por Espectroscopia UV-vis, 242,3 mgAG/g equivalentes a ácido gálico. Tanto o extrato seco quanto a droga vegetal apresentaram perda da estabilidade a partir de 200°C, na análise termogravimétrica. A solução oral, o creme e o gel foram obtidas por planificação qualitativa e quantitativa de excipientes, e analisadas, quando aplicável, as características organolépticas, pH, densidade, viscosidade, espalhabilidade, estando os parâmetros dentro das finalidades pretendidas. Em nenhuma das formulações, houve incompatibilidade entre o extrato seco e os excipientes. A solução oral, analisada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, apresentou os mesmos constituintes presentes no extrato seco e, ao ser avaliada, quanto à atividade antinociceptiva, em camundongos e ratos, mostrou 85% de inibição da percepção da dor. O estudo de estabilidade preliminar das formulações foi iniciado, conforme RDC nº 318 (2019). A partir dos resultados obtidos, pode-se garantir a qualidade físico-química da matéria-prima vegetal, desenvolvendo-se, previamente, formulações alternativas e promissoras para o tratamento da dor e da inflamação, seja na terapia isolada ou complementar.

Palavras-chave: Boraginaceae. Fitoterapia. Compostos fenólicos. Formulações Farmacêuticas. Controle de qualidade.

ABSTRACT

The plant species, *Varronia multispicata*, popularly used in the treatment of respiratory and skin diseases, had its anti-inflammatory and antinociceptive activity recently proven. Thus, the present study aimed to technologically develop pharmaceutical forms based on *V. multispicata* for the treatment of pain and inflammation. The physical-chemical characterization of the plant drug, aqueous extract and lyophilized dry extract was carried out according to Brazilian Pharmacopoeia 6th edition (FB). Three formulations were also developed and the applicable quality controls were carried out. The leaves of *V. multispicata* were collected in the region of Castanhal city, in Pará state and the vegetable drug obtained was classified, in terms of granulometry, as semi-fine powder. Results were obtained within the parameters required by the FB (1.32% other extrinsic elements the vegetable drug; 8.51% loss on desiccation and 10.39% equivalent to total ashes). The aqueous extract (1:10, p/v), also presented as determined by the FB, with pH 7.13; relative density equal to 1.0058 g/mL and dry residue equivalent to 2.14%. The lyophilized dry extract, on the other hand, showed solubility in water and sorbitol, 3% humidity and, by Scanning Electron Microscopy, showed indefinite and irregular morphology. Phytochemical screening showed the presence of phenolic compounds, demonstrating, by UV-vis Spectroscopy, 242.3 mgGA/g equivalent to gallic acid. Both the dry extract and the plant drug showed a loss of stability after 200°C in thermogravimetric analysis. The oral solution, the cream and gel, were obtained by qualitative and quantitative planning of excipients, and the organoleptic characteristics, pH, density, viscosity, spreadability were analyzed, when applicable, with the parameters within the intended purposes. In none of the formulations, there was incompatibility between the dry extract and the excipients. The oral solution, analyzed by High Performance Liquid Chromatography, showed the same constituents present in the dry extract and when evaluated, regarding antinociceptive activity, in mice and rats, showed 85% inhibition of perception of pain. The stability study of the formulations was started, according to RDC nº 318 (2019). Based on the results obtained, it is possible to guarantee the physical-chemical quality of the plant raw material, previously developing alternative and promising formulations for the treatment of pain and inflammation, whether in isolated or complementary therapy.

Keywords: Boraginaceae. Phytotherapy. Phenolic compounds. Pharmaceutical Formulations. Quality control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 –	Principais mecanismos de sinalização química na via nociceptiva, e suas principais características.....	27
Quadro 2 –	Espécies vegetais com atividades anti-inflamatória e/ou antioxidante comprovadas, e demais especificações do estudo científico.....	30
Figura 1 –	<i>Varronia multispicata</i> (Cham) Borhidi.....	33
Figura 2 –	Transmissão dos sinais gustatórios para o sistema nervoso central.....	40
Figura 3 –	Esquema gráfico representando a anatomia da língua, seus constituintes e áreas gustativas.....	41
Figura 4 –	Esquema gráfico representando as camadas da pele humana.....	45
Quadro 3 –	Exemplos de excipientes utilizados em formas farmacêuticas líquidas com suas respectivas classificações e funções.....	46
Quadro 4 –	Exemplos de excipientes utilizados em formas farmacêuticas semissólidas com suas respectivas classificações e funções.....	49
Figura 5 –	Representação de reogramas de acordo com o comportamento de vários materiais.....	53
Figura 6 –	Representação de comportamento reológico de fluídos não newtonianos dependente do tempo.....	53
Quadro 5 –	Padrões químicos, sistemas eluentes e agentes cromogênicos utilizados na triagem fitoquímica do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	61
Figura 7 –	Droga vegetal de <i>V. multispicata</i>	75
Figura 8 –	Histograma referente ao perfil granulométrico de <i>V. multispicata</i>	76
Figura 9 –	Curvas de retenção e passagem da droga vegetal.....	77
Figura 10 –	Extrato aquoso de <i>V. multispicata</i> obtidos por infusão (1:10 p/v).....	79

Figura 11 –	Extrato seco aquoso à base de <i>V. multispicata</i> , obtido por liofilização.....	81
Figura 12 –	Fotomicrografias do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	84
Figura 13 –	Curvas TG da droga vegetal e extrato seco de <i>V. multispicata</i>	89
Figura 14 –	Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de <i>V. multispicata</i> , excipientes utilizados na solução oral (sorbitol, metilparabeno, sucralose e essência de chocolate) e misturas binárias (1:1, p/p)	91
Figura 15 –	Aspecto macroscópico da solução oral obtida.....	96
Figura 16 –	Comparação do <i>fingerprint</i> do extrato aquoso e solução oral de <i>V. multispicata</i>	98
Figura 17 –	Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de <i>V. multispicata</i> , excipientes utilizados no creme (monoestearato de glicerila, álcool cetosteárico, lauril sulfato de sódio, propilenoglicol, BHT, MF - Novamit®) e misturas binárias (1:1, p/p).....	100
Figura 18 –	Aspecto macroscópico do creme obtido.	107
Figura 19 –	Espalhabilidade dos LBs do creme à base de <i>V. multispicata</i> em função do peso adicionado.....	108
Figura 20 –	Reogramas dos LBs do creme à base de <i>V. multispicata</i> , expressos por tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento.....	109
Figura 21 –	Reogramas dos LBs do creme à base de <i>V. multispicata</i> , expressos por viscosidade versus taxa de cisalhamento.....	110
Figura 22 –	Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de <i>V. multispicata</i> , excipientes utilizados no gel (Carbopol®, propilenoglicol e MF - Novamit®) e misturas binárias (1:1, p/p).	112
Figura 23 –	Aspecto macroscópico do gel obtido.....	117
Figura 24 –	Reogramas dos LBs do gel à base de <i>V. multispicata</i> , expresso por tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento.....	117
Figura 25 –	Reogramas dos LBs do gel à base de <i>V. multispicata</i> , expresso por viscosidade versus taxa de cisalhamento.....	118

Figura 26 –	Espalhabilidade dos LBs do gel à base de <i>V. multispicata</i> em função do peso adicionado.....	118
Figura 27 –	Efeito da solução oral de <i>V. multispicata</i> sobre as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%; v/v), em comparação com os efeitos promovidos pelo extrato seco e pela indometacina.....	121
Figura 28 –	Efeito da solução oral de <i>V. multispicata</i> sobre a migração leucocitária induzida pela administração intraperitoneal de LPS em comparação com os efeitos promovidos pelo extrato seco e pela Indometacina.....	122
Figura 29 –	Formas farmacêuticas obtidas à base de <i>V. multispicata</i> , após 8 meses em câmara de estabilidade.....	124

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Abertura de malha do conjunto de tamises selecionado.....	56
Tabela 2 –	Termos descritivos de solubilidade.....	60
Tabela 3 –	Excipientes utilizados no desenvolvimento da solução oral a base de <i>V. multispicata</i> com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.....	63
Tabela 4 –	Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento da solução oral à base de <i>V. multispicata</i>	64
Tabela 5 –	Excipientes utilizados no desenvolvimento do creme à base de <i>V. multispicata</i> com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.....	66
Tabela 6 –	Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento do creme à base de <i>V. multispicata</i>	68
Tabela 7 –	Excipientes utilizados no desenvolvimento do gel à base de <i>V. multispicata</i> com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.....	70
Tabela 8 –	Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento do gel à base de <i>V. multispicata</i>	71
Tabela 9 –	Teste de solubilidade do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	82
Tabela 10 –	Análises cromatográficas, por CCD, do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	84
Tabela 11 –	Eventos térmicos ocorridos na droga vegetal e extrato seco de <i>V. multispicata</i>	89
Tabela 12 –	Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade da solução oral, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1, p/p).....	92
Tabela 13 –	Controle de qualidade físico-químico da solução oral à base do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	96
Tabela 14 –	Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade do creme, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1, p/p)	102

Tabela 15 –	Controle de qualidade físico-químico do creme à base do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	107
Tabela 16 –	Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade do gel, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1, p/p).	113
Tabela 17 –	Controle de qualidade físico-químico do gel à base do extrato seco de <i>V. multispicata</i>	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcentagem
<	Menor que
>	Maior que
±	Mais ou menos
Δ	Aquecimento
®	Marca registrada
1/s	Taxa de cisalhamento
A/O	Emulsões água-em-óleo
AG	Ácido gálico
AINEs	Anti-inflamatórios Não Esteroidais
ANOVA	Análise de Variância
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CEPAE	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação
Ciclooxigenases	COXs
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CL-EM	Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massas
cm	Centímetros
CMC	Carboximetilcelulose
COX-1	Ciclooxigenase constitutiva
COX-2	Ciclooxigenase induzida em condições patológicas
DE50	Dose efetiva mediana
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Termogravimetria Derivada
e.p.m	Erro padrão da <i>média</i>
ed.	Edição
EDTA	Edetatodissódico
Ei	Espalhabilidade
et al.	e colaboradores
FB	Farmacopeia Brasileira
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
g	Gramas

g/mL	Gramas/milímetros
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
IEC	Instituto Evandro Chagas
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
IFAs	Insumos Farmacêuticos Ativos
IL	Interleucina
LB	Lote de bancada
LBs	Lotes de bancada
LPS	Lipopolissacarídeo
Ltda.	Limitada
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
m/m	massa/massa
m/z	massa/carga
MF	Metilisotiazolinona e Fenoxietanol (conservante Novamit [®])
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligramas
mgAG/g	Miligramas equivalentes a ácido gálico
mg/kg	Miligramas por quilo
nm	Nanômetros
n°	Número
O/A	Emulsões óleo-em-água
°C	Graus Celsius
p/p	Proporção peso/peso
p/v	Proporção peso/volume
PA	Pará
Pa.s	Viscosidade
PGs	Prostaglandinas
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
Rf	Fator de retenção
rpm	Rotações por minuto
SisGen	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado

TG	Curvas termogravimétricas
TGA	Termogravimetria
T _{início}	Temperatura de início do evento térmico
T _{pico}	Temperatura de pico do evento térmico
TRP	Receptores transitórios de potencial
TRPV1	Receptores transitórios de potencial sensíveis a capsaicina
UFPA	Universidade Federal do Pará
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV-vis	Ultravioleta Visível
v/v	Proporção volume/volume
λ	Comprimento de onda
μm	Micrômetro
π	Número Pi (=3,14)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	23
1.1	OBJETIVOS.....	24
1.1.1	Objetivo geral.....	24
1.1.2	Objetivos específicos.....	24
2	REVISÃO DE LITERATURA	26
2.1	A DOR E OS AGENTES ANALGÉSICOS.....	26
2.2	O PROCESSO DA INFLAMAÇÃO E OS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS.....	28
2.3	ESPÉCIES VEGETAIS COM POTENCIAIS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO.....	29
2.4	ASPECTOS BOTÂNICOS E FITOQUÍMICOS: <i>Varronia multispicata</i> (Cham.) Borhidi.....	32
2.5	ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE FORMAS FARMACÊUTICAS FITOTERÁPICAS.....	35
2.5.1	Caracterização físico-química dos insumos vegetais.....	36
2.5.2	Obtenção dos extratos secos por liofilização	37
2.5.3	Estudo de compatibilidade de excipientes.....	38
2.5.4	Formas farmacêuticas líquidas.....	39
2.5.4.1	Órgão responsável pela percepção dos sabores: a língua.....	39
2.5.4.2	Desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas.....	42
2.5.4.3	Controles de qualidade aplicáveis às formas farmacêuticas líquidas.....	43
2.5.5	Formas farmacêuticas semissólidas: creme e gel.....	43
2.5.5.1	Maior órgão do corpo humano: a pele.....	43
2.5.5.2	Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas.....	45
2.5.5.3	Controles de qualidade aplicáveis às formas farmacêuticas semissólidas..	48
2.6	PADRONIZAÇÃO QUÍMICA DAS FORMAS FARMACÊUTICAS.....	53
3	METODOLOGIA	55
3.1	OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	55
3.2	CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL.....	55
3.2.1	Determinação da matéria estranha.....	55

3.2.2	Determinação da distribuição granulométrica do pó.....	55
3.2.3	Determinação da perda por dessecação.....	56
3.2.4	Determinação do teor de cinzas totais.....	57
3.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO.....	57
3.3.1	Determinação de resíduo seco.....	58
3.3.2	Determinação do pH.....	58
3.3.3	Determinação de densidade relativa.....	58
3.4	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO.....	59
3.4.1	Determinação da umidade.....	59
3.4.2	Análise da solubilidade do extrato seco liofilizado de <i>V. multispicata</i>	59
3.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	60
3.4.4	Prospecção fitoquímica.....	60
3.4.5	Doseamento de compostos fenólicos.....	61
3.5	ANÁLISE DO PERFIL TÉRMICO.....	62
3.6	OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DAS FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE DE <i>V. multispicata</i>	62
3.6.1	Forma Farmacêutica Solução oral à base de <i>V. multispicata</i>	63
3.6.1.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção da solução oral à base de <i>V. multispicata</i>.....	63
3.6.1.2	Obtenção da solução oral à base do extrato seco de <i>V. multispicata</i>.....	63
3.6.1.3	Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis à solução oral.....	65
3.6.1.4	<i>Fingerprint</i> da solução oral por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	65
3.6.2	Forma Farmacêutica Semissólida Creme à base de <i>V. multispicata</i>	66
3.6.2.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do creme à base de <i>V. multispicata</i>.....	66
3.6.2.2	Obtenção do creme à base de <i>V. multispicata</i>.....	66
3.6.2.3	Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis ao creme.....	68
3.6.3	Forma Farmacêutica Semissólida Gel à base de <i>V. multispicata</i>	70
3.6.3.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do gel à base de <i>V. multispicata</i>.....	70
3.6.3.2	Obtenção do gel à base de <i>V. multispicata</i>.....	70
3.6.3.3	Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis ao gel.....	72

3.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA: SOLUÇÃO ORAL.	72
3.7.1	Animais de experimentação.....	72
3.7.2	Drogas e tratamentos.....	72
3.7.3	Avaliação da atividade antinociceptiva da solução oral à base de <i>V. multispicata</i>	73
3.7.4	Peritonite induzida por Lipopolissacarídeo (LPS)	73
3.7.5	Análise estatística.....	74
3.8	ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMAS FARMACÊUTICAS.....	74
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
4.1	OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	75
4.2	CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL.....	75
4.2.1	Determinação da matéria estranha.....	75
4.2.2	Determinação da distribuição granulométrica do pó.....	76
4.2.3	Determinação da perda por dessecação.....	77
4.2.4	Determinação do teor de cinzas totais.....	78
4.3	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO.....	79
4.3.1	Determinação de resíduo seco.....	79
4.3.2	Determinação do pH.....	80
4.3.3	Determinação de densidade relativa.....	80
4.4	OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO.....	80
4.4.1	Determinação da umidade.....	81
4.4.2	Teste de solubilidade do extrato seco liofilizado de <i>V. multispicata</i>	81
4.4.3	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	83
4.4.4	Prospecção fitoquímica.....	84
4.4.5	Doseamento de compostos fenólicos.....	87
4.5	ANÁLISE DO PERFIL TÉRMICO.....	87
4.6	OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DAS FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE DE <i>V. multispicata</i>	89
4.6.1	Solução oral à base de <i>V. multispicata</i>	89
4.6.1.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção da solução oral à base de <i>V. multispicata</i>.....	89
4.6.1.2	Obtenção da solução oral à base do extrato seco de <i>V. multispicata</i>.....	93
4.6.1.3	Controles de qualidade físico-químicos da solução oral.....	95

4.6.1.4	Fingerprint da solução CLAE.....	97
4.6.2	Creme à base de <i>V. multispicata</i>	98
4.6.2.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do creme à base de <i>V. multispicata</i>.....	98
4.6.2.2	Obtenção do creme à base de <i>V. multispicata</i>.....	103
4.6.2.3	Controles de qualidade físico-químicos do creme.....	106
4.6.3	Gel à base de <i>V. multispicata</i>	110
4.6.3.1	Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do gel à base de <i>V. multispicata</i>.....	110
4.6.3.2	Obtenção do gel à base de <i>V. multispicata</i>.....	112
4.6.3.3	Controles de qualidade físico-químicos aplicados ao gel.....	116
4.7	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA: SOLUÇÃO ORAL.	119
4.8	ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMAS FARMACÊUTICAS.....	123
5	CONCLUSÃO.....	125
5.1	PERSPECTIVAS.....	125
	REFERÊNCIAS.....	128
	APÊNDICE A - MODELO DE PAINEL SENSORIAL HUMANO.....	145

1 INTRODUÇÃO

As espécies vegetais vêm, desde tempos remotos, sendo utilizadas para fins medicinais. No entanto, só a partir do século XX, os estudos para identificação e caracterização estrutural dos compostos vegetais garantiram embasamento científico e ampliaram o estímulo ao desenvolvimento e uso de fitoterápicos. Esse fato tornou o custo mais acessível à população e aos serviços públicos de saúde, mantendo, da mesma forma, o intuito de prevenção, cura e/ou minimização dos sintomas das doenças (TOLEDO et al., 2003; FRANÇA; VASCONCELLOS, 2018; SILVA et al., 2019; WHO, 2019).

A fitoterapia, no Brasil, ganhou espaço na terapêutica, principalmente após a implantação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, em 2006, inserida no âmbito do Sistema único de Saúde e também fazendo parte da Política Nacional de Medicina Tradicional e Complementar, da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2019).

Na perspectiva do processo inflamatório como uma resposta essencial do organismo frente a diversos agentes nocivos, têm-se, em determinadas situações, a exacerbação da resposta inflamatória sem benefícios aparentes e trazendo consequências adversas graves, seja na expressão fisiológica dos mecanismos de calor, dor, rubor, tumor e consequente perda da função; seja mediante a recorrência da terapêutica anti-inflamatória, a qual apresenta inúmeras contraindicações e efeitos colaterais destacados (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012; RANG et al., 2016).

Por efeito do arsenal medicamentoso, disponíveis atualmente no mercado, para tratamento da dor e da inflamação, descobertas de princípios ativos de origem vegetal e o desenvolvimento formulações fitoterápicas, visa novas possibilidades de tratamento, surgindo como alternativas para um tratamento analgésico e anti-inflamatório mais eficaz e sem tantos efeitos nocivos (BARREIRO; BOLZANI, 2009).

Diversas espécies vegetais pertencentes à família Boraginaceae estão sendo estudadas com essa finalidade (CASTRO; RIVERA; FRANCO, 2018; HATWAREA et al., 2018; YISMAW et al., 2020), podendo-se destacar *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi (sinonímia: *Cordia multispicata*), espécie pertencente ao gênero *Cordia* e amplamente utilizada na medicina popular. O extrato etanólico das folhas dessa espécie mostraram promissor efeito anti-inflamatório (SODRÉ, 2013), o mesmo efeito também observado por Lopes (2017), onde o extrato aquoso liofilizado das folhas de *V. multispicata*, além de apresentar baixa toxicidade oral aguda, demonstrou atividades antinociceptiva e anti-inflamatória significativas (LOPES, 2017; LOPES, 2019).

Diante dos constituintes ativos naturais, a preocupação com as características físico-químicas e biológicas do material se torna ainda mais relevante devido às suas peculiaridades. Logo, faz-se necessário submeter os fitoterápicos a rígidos controles de qualidade em cada fase de idealização, avaliação e obtenção. Garantindo ação farmacológica adequada, redução e/ou controle de efeitos colaterais, segurança e eficácia da formulação (LEITE, 2009; GIL, 2010; PESSANHA, 2011; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Dentro desse contexto, o presente trabalho propõe, a partir de estudos de pré-formulação e desenvolvimento, a obtenção de formas farmacêuticas à base da espécie vegetal nativa, *V. multispicata*, para a terapia clínica da dor e de distúrbios inflamatórios, baseando-se nos resultados obtidos por Lopes (2017).

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Realizar o desenvolvimento tecnológico de formas farmacêuticas à base de *Varronia multispicata*, visando uma alternativa terapêutica para o tratamento da dor e da inflamação.

1.1.2 Objetivos específicos

- Realizar caracterização físico-química da droga vegetal à base de *Varronia multispicata*;
- Obter e caracterizar o extrato aquoso de *V. multispicata*;
- Obter e caracterizar o extrato seco liofilizado à base de *V. multispicata*, incluindo o doseamento de compostos fenólicos e determinação do perfil cromatográfico;
- Realizar estudo de compatibilidade entre os excipientes e extrato seco à base de *V. multispicata*;
- Obter lotes de bancada (LBs) da forma farmacêutica líquida, solução oral, a partir do extrato seco de *V. multispicata* e realizar os controles de qualidade aplicáveis;
- Obter LBs da forma farmacêutica semissólida, creme, a partir do extrato aquoso de *V. multispicata* e realizar os controles de qualidade aplicáveis;

- Obter LBs da forma farmacêutica semissólida, gel, a partir do extrato aquoso de *V. multispicata* e realizar os controles de qualidade aplicáveis;
- Realizar estudo da atividade antinoceptiva e interferência sob a migração de leucócitos, a partir da solução oral à base de *V. multispicata*;
- Iniciar o estudo preliminar de estabilidade acelerada e fotoestabilidade dos três LBs obtidos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 A DOR E OS AGENTES ANALGÉSICOS

Dentro do estudo dos mecanismos da dor dois conceitos são essenciais: o conceito de dor e de nocicepção. A dor, propriamente dita, “é a resposta direta a um evento indesejável associado à lesão tecidual, como trauma, inflamação ou câncer”, ademais, pode também associar-se tanto a uma doença neurológica, causando o que é chamado de “dor neuropática”, quanto a uma lesão traumática em nervos periféricos. Já a nocicepção, refere-se à percepção de estímulos danosos ao organismo, “sendo uma experiência subjetiva e inclui forte componente emocional (afetivo)” (RANG et al., 2016).

Os neurônios presentes em fibras mielinizadas são responsáveis pela transmissão da dor aguda e bem localizada. Essas fibras aferentes primárias podem ser sensibilizadas a partir de vários estímulos. Quando a ativação vem através de um mecanismo físico ou térmico, a dor aguda é logo expressa, contudo, a permanência dessa resposta de dor só prossegue porque, automaticamente, compostos químicos foram liberados, também sensibilizando os nervos periféricos (RANG et al., 2016).

Já as terminações nociceptivas, ou seja, as terminações de percepção da dor associam-se as fibras não mielinizadas e são responsáveis pelos estados crônicos, onde pode ser expressa como hiperalgesia, quando ocorre um aumento da intensidade da dor frente ao evento nocivo leve; alodinia (dor gerada por um estímulo não nocivo) ou a percepção de dor não associada a nenhum estímulo (espontânea) (RANG et al., 2016). No quadro 1 estão expostas as principais vias de sinalização química (excitação) na via nociceptiva e suas principais características.

Como exemplos de alguns fármacos disponíveis na terapêutica para o tratamento da dor (níveis leves até dores intensas), temos os fármacos analgésicos opioides (ex: morfina, oxicodona, codeína), que atuam sob o sistema nervoso central e encontram-se enquadrados na Lista A1 de substâncias sob controle especial (Portaria 344/98) (BRASIL, 1998); e os anti-inflamatórios não estereoidais (AINEs), em especial o paracetamol, que, diferentemente dos demais compostos pertencentes aos AINEs (abordados no tópico 2.2), apresenta maior potência nos seus efeitos analgésico e antipirético. Também, associações entre os opioides e os AINEs são bastante praticadas, por proporcionarem, em muitos casos, analgesia em associação, geralmente de forma aditiva (RANG et al., 2016).

Quadro 1: Principais mecanismos de sinalização química na via nociceptiva, e suas principais características.

Sinalização química	Características
Receptores transitórios de potencial (TRP)	O TRPV1: <ul style="list-style-type: none"> - Desempenha papel central na nocicepção; - Canais sensíveis a capsaicina, a temperatura acima de 42°C e concentrações de prótons na faixa micromolar (pH 5,5 e inferior); - A capsaicina excita seletivamente terminações nervosas, causando dor intensa, ativando o TRPV1.
Cininas	<ul style="list-style-type: none"> - A bradicinina e calidina, são os principais exemplos de hormônios polipeptídeos que induzem dor intensa; - A bradicinina têm sua ação aumentada após promover liberação de prostaglandinas (PGs) e atua sob os receptores B2 dos neurônios nociceptivos, que ativam os TRPV1, por meio de outros mecanismos.
Histamina	Amina biogênica liberada durante a inflamação, de forma local, causando prurido e não, especificamente, dor.
Prostaglandinas (PGs)	Sinais químicos celulares que não causam dor por si só, mas possuem efeito indutor sob outros agentes (tópico 2.2).
Prótons produzidos por ácido láctico	Em meio a baixo pH a abertura dos canais de cátions, ativados por prótons, é promovida, atuando sob TRPV1, por meio de outros mecanismos.
Serotonina	Molécula liberada durante a inflamação, de forma local.
Trifosfato de adenosina	Nucleotídeo que excita terminações nervosas nociceptivas por atuação sobre os receptores P2X ₃ homoméricos.

Fonte: RANG et al., 2016.

2.2 O PROCESSO DA INFLAMAÇÃO E OS AGENTES ANTI-INFLAMATÓRIOS

O processo inflamatório pode ser dividido em três fases, as quais são mediadas por mecanismos distintos: 1) fase aguda, caracterizada pela vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular no capilar; 2) uma fase subaguda onde ocorre a infiltração de leucócitos e células fagocitárias no plasma sanguíneo; 3) e uma fase crônica proliferativa onde ocorre a degeneração do tecido e fibrose (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Os AINEs são os fármacos mais utilizados dentre os anti-inflamatórios existentes. Eles atuam inibindo as ciclooxigenases (COXs), a síntese de PGs e tromboxanos, diminuindo, assim, a intensidade do processo inflamatório (RANG et al., 2016).

As PGs são mediadores inflamatórios derivados de fosfolipídios de membrana, via ação catalítica da fosfolipase A2, liberando ácido araquidônico, então processado pelas COXs, que são expressas tanto constitutivamente (COX-1), como também na isoforma induzida em condições patológicas (COX-2), sintetizando PGs (TAKEUCHI et al. 2010; RANG et al., 2016).

Os AINEs são as drogas de primeira escolha no tratamento de doenças reumáticas e não reumáticas, como a artrite reumatoide, osteoartrite e artrite psoriática, além de serem utilizados nas sequelas de traumas, contusões, pós-operatórios, alívio de dores menstruais, enxaquecas e cefaleias (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012; RANG et al., 2016). Atuam com ação analgésica, anti-inflamatória e antipirética, muito utilizados pela população, muitas vezes de forma indiscriminada, levando a ocorrência de efeitos colaterais diversos, sendo mais significativos em idosos (RANG et al., 2016).

Os AINEs, de forma geral, podem inibir tanto a COX-1 quanto a COX-2, como os fenilacetatos (ex: aceclofenaco) e fenamatos (ex: ácido mefenâmico), enquanto outros podem apresentar maior ou menor especificidade a cada uma das COXs. Como exemplos de alguns AINEs fracamente seletivos para COX-1 têm-se os propionatos (ex: cetoprofeno) e o indois (ex: indometacina); dentre os altamente seletivos para COX-1 estão as pirrolizinas (ex: cetorolaco) e os que se apresentam fracamente ou moderadamente seletivos para COX-2: os oxicans (ex: meloxicam) e coxibes (ex: celecoxibe) (RANG et al., 2016).

Como efeitos adversos mais destacáveis dessa classe medicamentosa, têm-se os efeitos cardiovasculares, respiratórios, cutâneos, renais, gastrointestinais, efeitos na função plaquetária e efeitos metabólicos, causando acidose metabólica, desenvolvimento de hiperglicemia e hipoglicemia como efeito tardio e (SODRÉ, 2013; RANG et al., 2016).

Esses efeitos adversos, principalmente os relacionados ao trato gastrointestinal, podem ser associados a COX-1 (enzima constitutiva, expressa na maioria dos tecidos), todavia, esse efeito indesejável não é expresso nos medicamentos seletivos para COX-2 (induzida, principalmente, nas células inflamatórias ativas, como as citocinas) (RANG et al., 2016).

É válido ressaltar que esses medicamentos seletivos para COX-2 (celecoxibe, etoricoxibe, lumiracoxibe, parecoxibe e rofecoxibe) apresentam efeito sob o sistema nervoso central (RANG et al., 2016), sendo enquadrados na Lista C1 de substâncias sob controle especial (Portaria 344/98), a partir da RDC nº. 79, de 04 de novembro de 2008 (BRASIL, 1998; BRASIL, 2008).

Os anti-inflamatórios esteroidais (também chamados de glicocorticóides) também são utilizados no tratamento de processos inflamatórios, devido aos seus efeitos imunomoduladores (LOPES 2017), esses “restringem a proliferação clonal das células Th através da diminuição da transcrição do gene para IL-2 (...) também diminuem a transcrição de muitos outros genes de citocinas” (RANG et al., 2016), tornando este medicamento altamente desejável em indivíduos portadores de autoimunidades e de alguns tipos de processos alérgicos, além de ser muito empregado em pacientes transplantados (HUEZA, 2008), todavia, essa classe medicamentosa também apresenta inúmeros efeitos adversos.

2.3 ESPÉCIES VEGETAIS COM POTENCIAIS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIO E ANTINOCICEPTIVO

Devido os potenciais efeitos adversos causados por esses medicamentos anti-inflamatórios e analgésicos disponíveis no mercado farmacêutico, a manifestação pela preferência na fitoterapia vem aumentando, proporcionando estudos em busca de novos fitofármacos e fitoterápicos que apresentam eficácia no combate a dor e inflamação, além de ter baixo efeito adverso (SODRÉ, 2013).

Um exemplo de planta medicinal, por muito tempo utilizada, para o combate da dor é *Papaver somniferum* (Papoula). A partir dessa espécie, substâncias opiáceas foram extraídas, apresentando ampla eficácia antinociceptiva, como a morfina e codeína (YUNES; CECHINEL FILHO, 2001; VEIGA; PINTO; MACIEL, 2005; SODRÉ, 2013), todavia, é relevante destacar que o mercado brasileiro necessita de fitoterápicos, oriundos da flora nativa. Atualmente, apenas um produto, obtido a partir do óleo essencial da espécie vegetal nativa *Codia verbenacea* está disponível comercialmente com finalidade anti-inflamatória tópica (Acheflan®) (CALIXTO, 2019).

Vários são os relatos de associação de metabólitos secundários pertencentes às classes dos taninos, flavonoides e derivados, com a atividade anti-inflamatória, antinociceptiva e antioxidante. Dessa forma, pode-se considerar, no geral, que os compostos fenólicos desempenham um papel importante nessas atividades farmacológicas, quando presentes em expressivas concentrações nas espécies vegetais (CUNHA, 2006; LEITE, 2009).

Quadro 2: Espécies vegetais com atividades anti-inflamatória e/ou antioxidante comprovadas, e demais especificações do estudo científico.

Espécie	Especificações do estudo	Referência
<i>Cordia alba</i> Jacq.	Família: Boraginaceae; Parte do vegetal: Flores; Tipo de extrato: Etanólico; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos e flavonoides; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória e antibacteriana tópica (frente a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> e <i>Staphylococcus aureus</i>).	CASTRO; RIVERA; FRANCO, 2018
<i>Cordia africana</i> Lam.	Família: Boraginaceae; Parte do vegetal: Sementes; Tipo de extrato: Metanólico (80%); Metabólitos estudados: Compostos fenólicos e flavonoides; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória e antioxidante.	YISMAW et al., 2020
<i>Cordia dichotoma</i> DC.	Família: Boraginaceae; Parte do vegetal: Folhas; Tipo de extrato: Metanólico; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória.	HATWAREA et al., 2018
<i>Elsholtzia ciliata</i> Thunb.	Família: Lamiaceae; Parte do vegetal: diversas partes da planta (flor, folha, caule e planta inteira); Tipo de extrato: Etanólico; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos; Anti-inflamatória e antioxidante.	PUDZIUVELYTE et al., 2020

Espécie	Especificações do estudo	Referência
<i>Ipomoea asarifolia</i> Desr.	Família: Convolvulaceae; Parte do vegetal: Folhas; Tipo de extrato: Aquoso; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória.	FURTADO et al., 2016
<i>Passiflora alata</i> Curtis	Família: Passifloraceae; Parte do vegetal: Folhas; Tipo de extrato: Aquoso liofilizado; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória e antioxidante.	NASCIMENTO, 2019
<i>Smilax china</i> L.	Família: Liliaceae; Parte do vegetal: Rizomas; Tipo de extrato: Extratos etanólicos, submetidos a partições em diversos solventes; Metabólitos estudados: Compostos fenólicos; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória.	ZHONG et al., 2017
<i>Varronia multispicata</i> (Cham.)	Família: Boraginaceae; Parte do vegetal: Folhas; Tipo de extrato: Etanólico; Metabólitos estudados: Triterpenos do tipo Damarano; Atividade farmacológica: Anti-inflamatória.	SODRÉ, 2013

“Consideram-se compostos fenólicos, numa definição genérica, todas as estruturas que possuem pelo menos um núcleo benzênico com um ou mais hidroxilas, livres ou fazendo parte de ésteres, éteres ou heterosídeos” (CUNHA, 2006), excluindo-se dessa classificação os alcalóides e terpenos, por exemplo.

No quadro 2 estão expostos alguns dos inúmeros estudos científicos que realizaram análises dos potenciais anti-inflamatório e/ou antinociceptivo de espécies vegetais, em especial, espécies ricas em compostos fenólicos.

Dentro dessa perspectiva, Lopes (2017) realizou um estudo da atividade de *V. multispicata* através do edema de pata induzido, teste de contorções abdominais (induzidas por ácido acético), avaliação da atividade antinociceptiva central e atividade locomotora e estímulo álgico (induzida por formalina), obtendo evidências científicas promissoras acerca

das propriedades analgésicas e anti-inflamatória dessa espécie vegetal, além de realizar testes para verificação do potencial tóxico, obtendo bons resultados (LOPES, 2017; LOPES et al., 2019), expostos na subseção 2.4.

2.4 ASPECTOS BOTÂNICOS E FITOQUÍMICOS: *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi

Nome científico: *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi (sinonímia: *Cordia multispicata*) (Figura 1);

Nomes populares: “Chá-de-cabloco”, “Chumbinho”, “Bode-caá”, “Carucaá”, “Maria-preta”;

Família: Boraginaceae;

Gênero: *Cordia*;

Hábito: Arbusto espontâneo;

Indicações terapêuticas: Bronquite, helmintíase, hipertensão, reumatismo, artrite, raquitismo, tuberculose, tosse, entre outras;

Partes geralmente utilizadas: Folhas e partes aéreas;

Modo de preparação usual, na medicina popular: Mistura ou xaropes;

Distribuição: ampla distribuição (Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica), mas encontrada, principalmente, na floresta amazônica. No Nordeste, pode ser encontrada em Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco e Sergipe (KUROYANAGI et al., 2001; KUROYANAGI et al., 2003; OLIVEIRA; GRILLO; TABARELLI, 2004; AGRA et al., 2007; ALBUQUERQUE et al., 2007; COELHO-FERREIRA, 2009; MELO; VIEIRA, 2017).

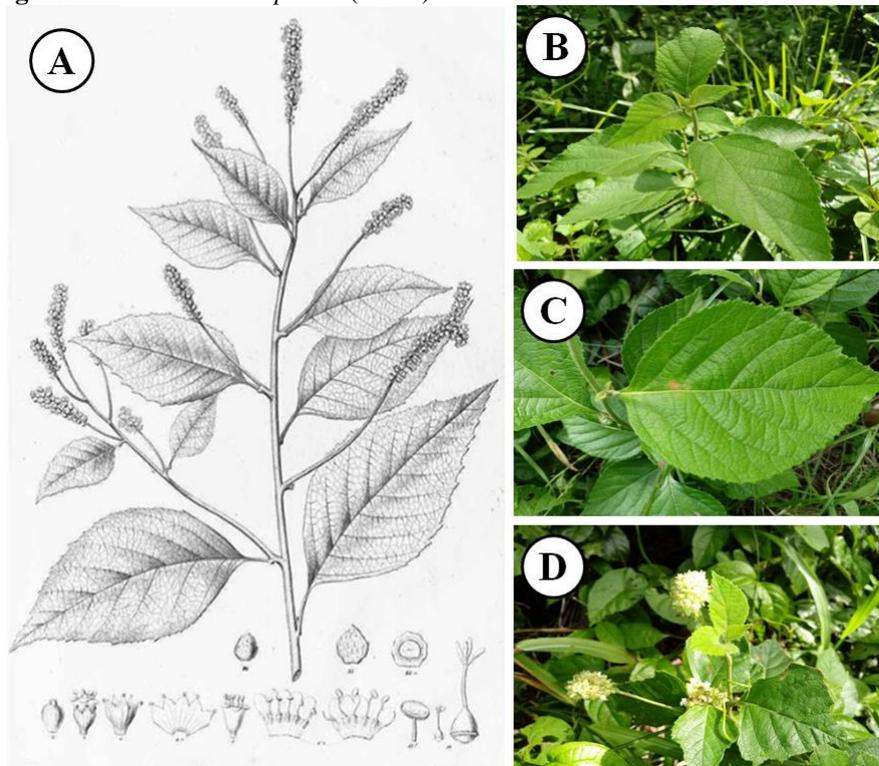
A família Boraginaceae, pertencente à ordem Lamiales, a subclasse Asteridae e a classe Magnoliatae (SILVA, 2013), é composta por cerca de nove gêneros e 66 espécies vegetais (BFG, 2015). Todavia, devido a estudos moleculares, baseados também em características morfológicas de cada espécie e na estabilidade nomenclatural, existem variações quanto a consideração do número de gêneros e espécies inclusos nessa família (SILVA et al., 2017).

De forma geral, espécies pertencentes à família Boraginaceae tem a utilização de diversas partes do vegetal (folhas, flores, frutos, sementes e caule, por exemplo), onde são extraídos, principalmente alcaloides, hidroquinonas, saponinas, taninos e ácidos fenólicos (SODRÉ, 2013; SILVA, 2017).

Um dos gêneros pertencentes a essa família é denominado de *Cordia*, amplamente abordado, por Oza e Kulkarni (2017), quanto aos usos tradicionais, composição fitoquímica e associação a atividades farmacológicas de várias das espécies pertencentes a esse gênero.

O gênero *Cordia* é composto por cerca de 250 espécies ricas em metabólitos secundários referente às classes dos terpenos e compostos fenólicos. Contudo, os metabólitos mais característicos, a esse gênero, são conhecidos como quinonas meroterpênicas, de acordo com Silva e colaboradores (2017).

Figura 1: *Varronia multispicata* (Cham) Borhidi.



Legenda: A- Ilustração representando componentes estruturais dos ramos de *V. multispicata*; B- Arbusto de coleta; C- Folha de *V. multispicata*; D- Inflorescência de *V. multispicata*.

Fonte: A- Adaptação de LOPES, 2017; B,C,D- Dados da pesquisa.

V. multispicata é uma espécie vegetal classificada como arbusto com características espontâneas, ou seja, possui ampla facilidade de dispersão, sendo essa uma característica associada à família que está inserida (Boraginaceae) (OLIVEIRA; GRILLO; TABARELLI, 2004). Por essa característica, favorece crescimento de novas espécies vegetais em campos, pastos, áreas abertas, clareiras, zonas de gramíneas (VIEIRA; UHL; NEPSTAD, 1994; OLIVEIRA; GRILLO; TABARELLI, 2004), principalmente em estações chuvosas (MOURA; MELO; SCHLINDWEIN, 2007).

Quanto aos aspectos botânicos de *V. multispicata* tem como principais características: ramos estrigosos (Figura 1A); folhas pecioladas e lâmina foliar (5 a 10 cm × 3 a 5,5 cm) com margem serrada, oval, ápice agudo a acuminado (Figura 1B), com face abaxial tomentosa; inflorescências espiciformes, terminal e axilar (entre 3 e 9 cm) (Figura 1D); pecíolo (entre 3 a 6 mm), cilíndrico e estrigoso; sementes não observadas. A descrição de outros aspectos botânicos de *V. multispicata*, são expostos por Melo & Vieira (2017) e Watanabe, Hiura & Nogueira (2017).

Kuroyanagi e colaboradores (2001) isolaram e elucidaram, estruturalmente, novos compostos triterpênicos (seis triterpenoides de tipo ursano e oleanano), a partir do fracionamento do extrato metanólico, das folhas de *Cordia multispicata*, com acetato de etila, os quais apresentaram atividade antiandrogênica (inibição da testosterona) (KUROYANAGI et al., 2001). Contudo, no estudo de Kuroyanagi e colaboradores (2003), com a purificação dos elementos polares da fração solúvel em acetato de etila, os novos triterpenos, do tipo damano (cordianois A e cordialina A) isolados, não responderam da mesma forma frente a atividade antiandrogênica, apresentando baixa eficácia (KUROYANAGI et al., 2003).

Vaz (2015), ao realizar a triagem fitoquímica do extrato etanólico das folhas de *V. multispicata*, e suas frações, foi possível verificar a presença de compostos fenólicos, ácidos graxos, flavonoides, cumarinas e terpenoides. Em conjunto foram obtidos extratos de várias outras partes da *V. multispicata*, sendo isolados os flavonoides retusina e ayanina, tanto no extrato etanólico das folhas, como do extrato de acetato de etila da inflorescência (VAZ, 2015).

Também, a partir do extrato de acetato de etila da inflorescência, foi isolado o flavonoide 3,7-dimetoxi-3',4',5-triidroxiflavona. Além disso, o extrato aquoso das folhas de *V. multispicata* apresentou atividade antimicrobiana, frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina, enquanto que o extrato etanólico das folhas e suas frações demonstraram boa atividade antinociceptiva (VAZ, 2015).

Em um estudo mais recente, Silva e colaboradores (2017) realizaram a análise fitoquímica do extrato hexânico de raízes de *C. multispicata* resultando no isolamento e caracterização de três naftoquinonas meroterpênicas, por meio de espectroscopia por ressonância magnética nuclear (SILVA et al., 2017).

Já no estudo realizado pelo grupo de pesquisa parceiro (LOPES et al., 2019), por meio de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa (CL-EM) realizou-se a identificação de uma gama de flavonoides presentes como constituintes do extrato seco aquoso liofilizado das folhas de *V. multispicata*, sendo citados: quercetina; quercetina-3-O-

rutinósideo; kaempferol; kaempferol-7-O-glicósideo; kaempferol-3-O-rutinósideo; 5,6'-di-hidroxi-7,2', 4', 5'-tetrametoxiflavona; 5,3'-di-hidroxi-3,7,4'-trimetoxiflavona; e 5-hidroxi-3,7,3', 4'-tetrametoxiflavona, além da 3,7-dimetoxi-3',4',5-triidroxiflavona, anteriormente isolada, pela primeira vez por Vaz (2015).

Quanto à avaliação da toxicidade oral aguda, os animais tratados com 2000 mg/kg do extrato liofilizado não manifestaram nenhum sinal de toxicidade evidente, apresentando 146,89 mg/kg como dose efetiva mediana (DE50) e, nas avaliações dos efeitos antinociceptivo e anti-inflamatório, observou-se atividade periférica significativa, além de evidências de hepatoproteção e efeito antioxidante (LOPES, 2017; LOPES et al., 2019).

2.5 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE FORMAS FARMACÊUTICAS FITOTERÁPICAS

“O fitoterápico é um medicamento e, como tal, deve atender a todos os requisitos necessários no que se refere à eficácia, à segurança e à qualidade” (GIL, 2010). Diante dessa afirmativa, primeiramente, para a obtenção de formas farmacêuticas líquida e semissólidas à base de *Varronia multispicata*, assim como ao utilizar qualquer que seja a fonte vegetal, devem ser analisados todos os parâmetros de qualidade exigidos (BADKE, 2011; SODRÉ, 2013) pelos compêndios oficiais, como a Farmacopeia Brasileira (FB) (BRASIL, 2019a).

Sabendo-se que “a escolha apropriada da forma farmacêutica e da via de administração tem como objetivo veicular, de forma correta, o(s) princípio(s) ativo(s) que compõem a planta medicinal, promovendo eficiente absorção e distribuição” (LEITE, 2009), fatores relacionados às características físico-químicas do extrato vegetal, conhecimento das vantagens e desvantagens das formas farmacêuticas de escolha, efeito terapêutico preconizado, perfil de absorção do(s) princípio(s) ativo(s) vegetais, além da finalidade de uma ação local ou sistêmica a partir da formulação obtida, são os fatores considerados no desenvolvimento de formas farmacêuticas à base de *V. multispicata* (LEITE, 2009).

Diante das promissoras propriedades analgésicas e anti-inflamatória de *V. multispicata* (LOPES, 2017), também frente às desvantagens terapêuticas já citadas, o desenvolvimento de uma solução oral, torna-se a primeira escolha desse estudo, devido a flexibilidade da dose, facilidade de administração e ingestão, atendendo tanto a população pediátrica como a geriátrica, essa que geralmente sofrem de comorbidades já preexistentes, além da perda do tônus muscular, diminuição dos reflexos e possibilidade de engasgo com administração de formulações sólidas, por exemplo (LIU et al., 2015; CASTRO, 2017).

Também foi optado pelo desenvolvimento de duas formas farmacêuticas semissólidas, já que os Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) administrados topicamente não sofrem o metabolismo de primeira passagem, não ocasionam problemas gastrointestinais, reduzem efeitos sistêmicos e promovem liberação constante do princípio ativo no sítio de aplicação (SOLIGNAC, 2009).

O creme, como forma farmacêutica preferível para uso em regiões de atrito, que apresentam característica de pele seca; e o gel, normalmente utilizado em tipos de pele normal a oleosa, com ou sem a presença de pelos. Visando-se também o emprego dessas formulações, de base aquosa, em lesões do tipo úmida (ou com exsudato) (AULTON; TAYLOR, 2016), para posteriores análises da atividade cicatrizante.

Sendo assim torna-se necessário um embasamento teórico, contemplando todos esses aspectos essenciais para fundamentação do referente estudo.

2.5.1 Caracterização físico-química dos insumos vegetais

A caracterização dos insumos vegetais à base de *V. multispicata*: droga vegetal e derivados (extrato fluido e extrato seco) deve atender às determinações para o controle da qualidade de matérias-primas vegetais e fitoterápicos (LEITE, 2009; GIL, 2010).

Para a droga vegetal abrange-se, quando aplicável, a determinação de matéria estranha, determinação do teor de umidade e cinzas (totais, sulfatadas e insolúveis em ácido), determinação de óleos essenciais, índice de amargor e índice de intumescência, além da classificação granulométrica, podendo a droga vegetal ser classificada como pó grosso, moderadamente grosso, semifino, fino ou finíssimo (BRASIL, 2019a). Além disso, é válido ressaltar que o controle de qualidade da droga vegetal é aplicado desde o controle do plantio da espécie, passando pelo processo de secagem e por todos os procedimentos posteriores (GIL, 2010).

As caracterizações exigidas para os extratos fluidos vegetais abrangem, quando aplicável, a determinação de resíduo seco, determinação de massa, pH, densidade relativa e teor de etanol. Já para o extrato seco obtido determinações quanto ao teor de umidade, testes de solubilização, análise macro e microscópicas e classificação granulométrica (BRASIL, 2019a), por exemplo, podem ser avaliadas, quando aplicáveis. Sendo esses parâmetros variados de amostra para amostra, em especial, conforme composição vegetal, diferentes métodos de secagem e finalidade pretendida.

2.5.2 Obtenção dos extratos secos por liofilização

Os extratos vegetais, em diversas apresentações físicas (líquida, semissólida e/ou seca) podem ser veiculados em qualquer forma farmacêutica a ser desenvolvida (LEITE, 2009). Todavia, a obtenção de extratos secos torna-se mais vantajosa em relação ao uso da solução extrativa, por exemplo.

Os extratos secos apresentam maior estabilidade, fácil armazenamento, transporte e baixo teor de substâncias termolábeis e compostos enzimáticos (COUTO et al., 2011; SILVA et al., 2018; COLUCCI; MANIACI; FISSORE, 2019). Além disso, vê-se uma maior facilidade na realização da padronização química, alcançando assim, maior homogeneidade entre os lotes manipulados (LEITE, 2009).

Diversos são os processos de secagem de extratos vegetais, no entanto, o processo de liofilização é bastante utilizado visto que tem como finalidade a preservação das características e qualidade do material utilizado (BOSS et al., 2004), principalmente para materiais extremamente sensíveis a exposição de altas temperaturas (AULTON; TAYLOR, 2016), além de apresentar a grande eficácia na secagem das amostras, gerando produtos de alta qualidade (SILVA et al., 2018).

Para melhor compreensão do mecanismo de liofilização de amostras, é necessária a compreensão do diagrama de fases da água. Sabendo que a água pode se apresentar na forma de vapor, líquido ou sólido, o diagrama de fases expõe áreas específicas para cada uma dessas fases da água, contudo, é no “ponto triplo” que essas três fases podem ocorrer concomitantemente. Portanto, a liofilização baseia-se no fato de que o gelo sólido, exposto a uma determinada pressão, com o aquecimento, irá sublimar passando da fase sólida diretamente para a fase de vapor d’água, sem passar pela fase líquida (AULTON; TAYLOR, 2016).

Dessa maneira, as etapas do processo de liofilização envolvem: o congelamento prévio (-10 a -30°C); etapa de aplicação de vácuo (fonte de vácuo suficiente para garantir a redução da pressão abaixo do ponto triplo) e a etapa de sublimação, que se apresenta como um processo lento, totalmente dependente da área superficial da amostra congelada e da transferência do calor de sublimação (AULTON; TAYLOR, 2016).

Além disso, em um estudo recente realizado por Koffi e colaboradores (2020), foi observado que o método de liofilização apresentou uma elevada preservação dos compostos fenólicos totais presentes no extrato aquoso das folhas de *Justicia secunda*, sugerindo-se essa técnica como vantagem também no armazenamento de extratos vegetais utilizados na medicina tradicional.

2.5.3 Estudo de compatibilidade de excipientes

Dentro da etapa de pré-formulação de uma nova forma farmacêutica, temos o estudo da compatibilidade do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) com os excipientes componentes da formulação, sendo essas análises extremamente necessárias para que se possa analisar e/ou evitar possível instabilidade ou degradação do IFA e/ou de algum excipiente da formulação, afetando a estabilidade completa do produto (AULTON; TAYLOR, 2016).

As técnicas termoanalíticas são as mais utilizadas para a análise de insumos farmacêuticos, incluindo a Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (GIL, 2010; LEITE, 2017). Além disso, os estudos de compatibilidade podem ser realizados a partir de outras técnicas como Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), microscopia óptica e microscopia eletrônica de varredura (MEV) e difração de raios-X, por exemplo.

Quando se refere aos IFAs de origem vegetal, todas essas análises possibilitam a caracterização térmica dos componentes do extrato vegetal e também dos excipientes isolados, além de ser possível a preparação de misturas binárias como estratégia para avaliação da compatibilidade entre o IFA e excipientes, sendo essas geralmente analisadas na proporção 1:1 (m/m) (SALVIO NETO, 2010; SILVA, 2019a).

A partir dessas técnicas, pode-se realizar a seleção de excipientes que apresentam maior compatibilidade com o extrato vegetal e, portanto, garantiram a manutenção na qualidade, segurança e eficácia (ASSUNÇÃO, 2017), favorecendo, em paralelo, o desenvolvimento racional de formulações (SILVA, 2019a) fitoterápicas.

A análise térmica por TG consiste na determinação da “variação de massa da amostra (...) como uma função da temperatura, ou tempo de aquecimento” (BRASIL, 2019a), onde se pode obter dados da matéria referentes a eventos de quimiossorção, dessolvatação, decomposição, degradação oxidativa, desidratação, vaporização, sublimação, dessorção e absorção, entre outros. Obtendo-se, pela análise das curvas DTG, uma maior visualização dos eventos ocorridos (GIL, 2010).

Entre os indicativos de interação entre IFA e excipiente, quando analisados por meio da técnica TG, são apresentadas variações na forma das curvas de perda de massa, oscilação das temperaturas de eventos térmicos ou, até mesmo, aparecimento de novos eventos (VERAS et al., 2019). Já a análise térmica por DSC “possibilita avaliar os fenômenos energéticos, físicos e/ou químicos produzidos durante o aquecimento (ou resfriamento) de

uma substância” (BRASIL, 2019a), mas, geralmente, não são aplicáveis aos IFAs de origem vegetal.

Contudo, diante das evidências de possíveis incompatibilidades, técnicas mais sensíveis e robustas podem ser utilizadas, como é o caso do FTIR onde, através da análise dos espectros, é possível realizar uma diferenciação das substâncias com composições estruturais distintas (ASSUNÇÃO, 2017; BRASIL, 2019a). A comprovação da existência de interações deve ser minimamente avaliada, tendo em vista que o indicativo de incompatibilidade farmacêutica pode ser até mesmo desejado, quando oferece benefícios para a formulação como um todo (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Sendo válido considerar que também os indicativos de possíveis incompatibilidades podem apresentar-se apenas quando expostos a condições extremamente elevadas, de temperatura, por exemplo, como diante das técnicas de análise térmica e que, possivelmente, não serão alcançadas no desenvolvimento de uma formulação (SALVIO NETO, 2010; ASSUNÇÃO, 2017), nem em condições normais de armazenamento.

2.5.4 Formas farmacêuticas líquidas

2.5.4.1 Órgão responsável pela percepção dos sabores: a língua

A língua desempenha diferentes papéis no corpo humano, podendo relacionar suas funções a dois sistemas: o estomatognático e o sistema sensorial (REZENDE et al., 2016; FRANCO, 2018).

Esse órgão, fazendo parte da estrutura do sistema estomatognático, associa-se com a mastigação, deglutição, sucção e articulação da fala (REZENDE et al., 2016), fazendo parte da sua composição músculos extrínsecos (genioglosso, estiloglosso, palatoglosso e hioglosso), os quais ligam-se à língua e possibilitam a movimentação desse órgão, e os músculos intrínsecos (longitudinal superior, longitudinal inferior, vertical e transversal), que são os responsáveis pelas alterações na sua forma (ZEMLIN, 2000; REZENDE et al., 2016).

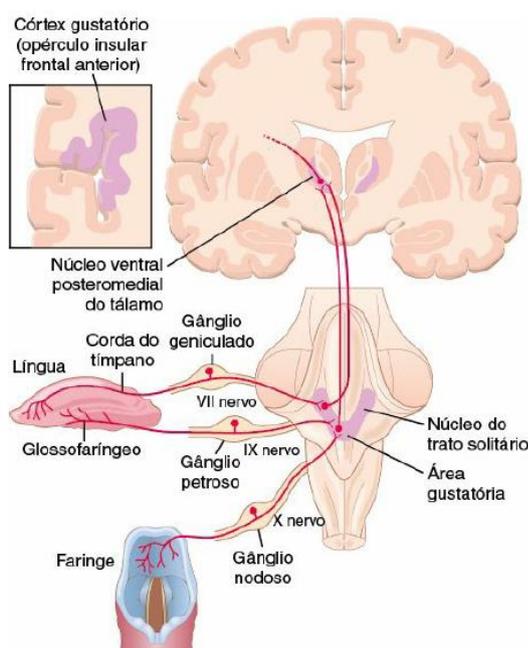
Considerando a língua como o órgão do sabor (FRANCO, 2018), ligado ao sistema sensorial, se tem o envolvimento de uma ligação do núcleo posteromedial ventral do tálamo para a base do córtex frontal e para o córtex insular, além de projeções para a amígdala e para o hipotálamo (Figura 2) (RODRIGUES, 2010; FRANCO, 2018).

A sensação do paladar é transportada por três nervos cranianos, sendo essas às vias neurais envolvidas com a gustação (RODRIGUES, 2010; FRANCO, 2018) (Figura 2). Outro

nervo envolvido na transmissão de sensações nesse tecido é o nervo trigêmeo, ao qual está associada duas outras funcionalidades da língua, a detecção de temperatura e textura (FRANCO, 2018).

Dessa forma, a fisiologia da língua e sua funcionalidade sensorial são os aspectos relevantes a serem abordados.

Figura 2: Transmissão dos sinais gustatórios para o sistema nervoso central.



Fonte: Site “Clínica Olfact” (GUYTON; HALL, 2017; CLÍNICA OLFACT, 2020).

A diferenciação dos sabores salgado, doce, azedo, amargo e umami (RODRIGUES, 2010; FERNANDEZ-GARCIA et al., 2017) (Figura 3 - 2) só é possível pela presença de células sensitivas na cavidade oral e na orofaringe, células essas que são estimuladas diante de moléculas liberadas após os mecanismos da mastigação e ingestão de líquidos (FRANCO, 2018).

Essas células sensoriais, quando presentes na língua, são chamadas de células gustativas e possuem o potencial de detecção de moléculas, por estarem vinculadas a diversas terminações nervosas (Figura 3 - 1c). Apresentam-se agrupadas em uma estrutura chamada de “botões gustativos”, os quais fazem parte da composição das papilas (Figura 3 - 1b) (PALHETAS NETO et al., 2011; GUYTON; HALL, 2017).

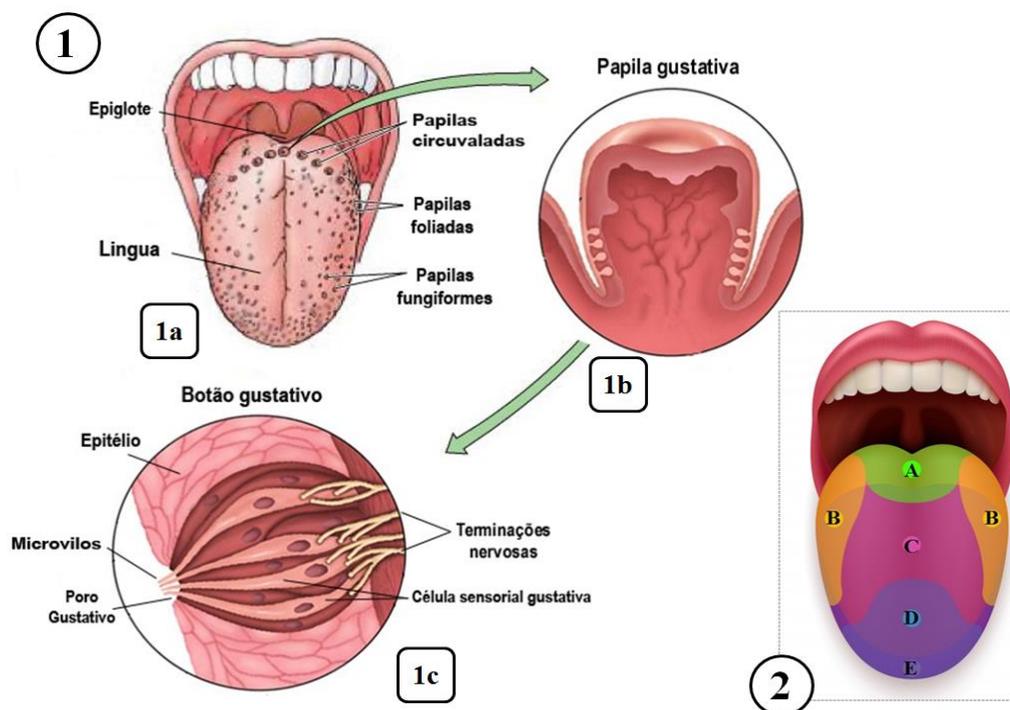
As papilas gustativas (Figura 3 - 1b) estão distribuídas sob o epitélio da língua, encontrando-se em diversas regiões desse órgão, sob diferentes morfologias e, por vezes,

variando o número de botões gustativos de sua composição (PALHETAS NETO et al., 2011; GUYTON; HALL, 2017).

Podem ser classificadas como papilas circunvaladas, quando encontradas no terço posterior da língua e envoltas por um sulco; como papilas foliadas, que também são circundadas por um sulco, mas são localizadas nas bordas posteriores da língua e, por fim, podem ser classificadas como papilas fungiformes, que se apresentam circunvaladas ou foliadas, contendo em sua composição inúmeros botões gustativos (Figura 3 – 1a) (PALHETAS NETO et al., 2011; GUYTON; HALL, 2017).

Na Figura 3 também estão demonstradas as áreas de percepção do sabor amargo (2A); sabor azedo (2B); sabor doce (2D) e salgado (2E). Já a área sensível ao sabor umami está representada na Figura 3 - 2C, sendo esse sabor correspondente a um “gosto saboroso e agradável”, associado, geralmente à presença de glutamato monossódico, presente em carnes, queijos e alguns vegetais (RODRIGUES, 2010; PALHETAS NETO et al., 2011).

Figura 3: Esquema gráfico representando a anatomia da língua, seus constituintes e áreas gustativas.



Legenda: 1a- representação anômica da língua; 1b- representação anômica da papila gustativa; 1c- representação anômica do botão gustativo; 2A- área de percepção do sabor amargo; 2B- área de percepção do sabor azedo; 2C- área de percepção do sabor umami; 2D- área de percepção do sabor doce; 2E- área de percepção do sabor salgado.

Fonte: Sites “Freepik” e “Anatomia em foco” (ANATOMIA EM FOCO, 2020; FREEPIK, 2020).

2.5.4.2 Desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas

Um fato importante a ser considerado, no desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas, é que o fator idade pode trazer sensibilidades gustativas desiguais para os indivíduos (FRANCO, 2018) e esse se torna um fator preocupante nos padrões de aceitabilidade de um medicamento de uso oral (CASTRO, 2017), por exemplo. Vê-se a idade como um fator crítico nesse sentido, pois, com o aumento da mesma, uma conjuntura de outros acontecimentos pode levar a anormalidades na percepção do sabor.

Ao citar as crianças, o paladar também se torna um determinante na escolha e também na aceitação (FRANCO, 2018), seja no âmbito alimentar ou medicamentoso, sendo esse grupo de indivíduos os que apresentam maior sensibilidade ao sabor amargo.

Dentre tantas outras causas dos distúrbios do paladar (trauma encefálico, infecções do trato respiratório, procedimentos dentários, exposição a substâncias tóxicas e fármacos, por exemplo (FRANCO, 2018)), o sabor relaciona-se diretamente com a capacidade olfativa. Alguns estudos associam grande parte dos distúrbios do paladar devido a um prejuízo na função olfativa dos indivíduos (PALHETAS NETO et al., 2011; FRANCO, 2018), sendo essa função abruptamente afetada durante o envelhecimento.

Outro fator gustativo afetado pela idade é o anatômico. A maturação de estruturas como as papilas gustativas modificam durante o desenvolvimento humano, apresentando pico de aprimoramento durante a puberdade. Contudo, essas estruturas sofrem atrofia na faixa dos 40-45 anos, para a mulher e, para o homem, por volta dos 50 anos. Os botões gustativos, também são estruturas que têm sua expressão reduzida com o envelhecimento, afetando diretamente na percepção de sabor (D'OTTAVIANO, 2001; PALHETAS NETO et al., 2011).

Outros dois fatores a serem considerados no desenvolvimento de uma forma farmacêutica líquida estão relacionados com o pH ideal para a formulação e o impacto da formulação sob o potencial de permeação dos IFAs pela mucosa oral.

A avaliação do pH de uma solução oral durante a pré-formulação deve garantir que os excipientes e IFAs tanto mantenham a estabilidade dos compostos, quanto a estabilidade geral da formulação e que esse pH mantenha-se próximo ao pH neutro (7,0) (AULTON; TAYLOR, 2016; GUIMARÃES, 2018). A variação de pH em uma formulação pode não só levar a instabilidade, mas também afetar a solubilidade dos IFAs e, conseqüentemente, afetar sua farmacocinética (GIL, 2010).

Quando se refere à farmacocinética da solução oral, deve-se levar em consideração que essa formulação tanto tenha efeito localizado sobre a cavidade oral e trato

gastrointestinal, como também demonstre poder de absorção para ação sistêmica (AULTON; TAYLOR, 2016). Contudo a permeabilidade do IFAs na cavidade oral, pode sofrer interferências de fatores como: irrigação sanguínea, espessura do epitélio, queratinização celular, presença de enzimas e condições patológicas (LAM et al., 2014), assim como pode sofrer interferência ao fazer uso de um medicamento líquido em formulação inadequada.

Diante de tudo isso, na composição de uma formulação líquida à base de uma planta medicinal, além do extrato vegetal, excipientes devem ser selecionados a fim de desempenhar uma função específica na forma farmacêutica, mostrando-se seguros e adequados para administração por via oral, conferindo estabilidade e favorecendo a biodisponibilidade e aceitação da formulação (AULTON; TAYLOR, 2016).

No quadro 3 estão expostas todas as classes, funções e exemplos dos constituintes que podem fazer parte da formulação de uma solução oral, atendendo os critérios já mencionados e sendo utilizados a depender da finalidade pretendida.

2.5.4.3 Controles de qualidade aplicáveis às formas farmacêuticas líquidas

Dentre os controles de qualidade aplicáveis as formas farmacêuticas líquidas pode-se citar: aspectos visuais e sensoriais, que envolvem todos os parâmetros que influenciará na aceitabilidade do indivíduo, inicialmente (transparência da solução, estabilidade física, associação entre aroma e coloração da formulação, por exemplo); medida de pH e determinação da densidade (GIL, 2010; BRASIL, 2019^a).

2.5.5 Formas farmacêuticas semissólidas: creme e gel

2.5.5.1 Maior órgão do corpo humano: a pele

A pele é um órgão que desempenha diversas funções, devido à sua anatomia e as propriedades químicas e biológicas dos seus mais diversos constituintes. Possui capacidade renovadora e de reparação, como também um certo grau de impermeabilidade. Apresenta como função vital a conservação da homeostasia, como também de função sensorial e de defesa contra agressões físicas, químicas e biológicas (SAMPAIO; RIVITTI, 2001; FERREIRA, 2017).

A função barreira da pele sofre grande interferência do pH (GUIMARÃES, 2018). Fatores como região anatômica, idade e uso de produtos tópicos podem resultar em variações

desse pH cutâneo (SCHNEIDER et al., 2007 retirado de Guimarães 2018), que deve ser mantido dentro de uma faixa levemente ácida, que pode variar de 4,5 a 5,5 (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002; SILVA; TORRES, 2019).

Por ser um órgão que possui estrutura específica e heterogênea (DUARTE, 2017), a pele humana é composta por três camadas principais: a epiderme celular, uma camada estratificada e avascular; a derme, que é subjacente ao tecido conectivo, e a hipoderme que é formada pela gordura subcutânea (TORTORA; GRABOWSKI, 2005; HUANG et al., 2005), como mostrado na Figura 4.

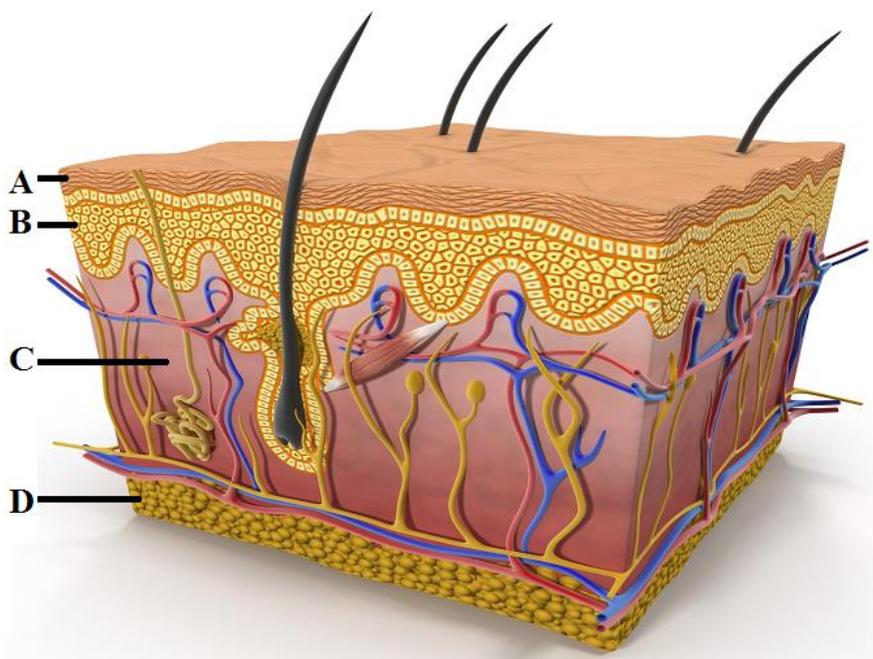
A epiderme (Figura 4B) é constituída por diversas células, entre elas os queratinócitos, melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel, sendo essas duas últimas células responsáveis pela apresentação de antígenos e as que se encontram próximas aos receptores sensoriais, respectivamente. Todavia, mais de 80% das células epidérmicas corresponde aos queratinócitos, estando dispostos lado a lado e apresentando uma constante renovação celular (AZULAY; AZULAY, 2006; DUARTE, 2017).

A camada mais externa da epiderme é chamada de estrato córneo (Figura 4^a), sendo um tecido formado por 10 a 15 camadas de corneócitos, envolvidos por lipídeos extracelulares. Por apresentar elevada organização estrutural e hidrofobicidade, o estrato córneo, além de atuar como um reservatório para formulações aplicadas por esta via apresenta-se como a principal barreira para a penetração de substâncias aplicadas topicamente (FERNANDEZ et al., 2000; FOLDVARI, 2000; LEONARDI et al., 2004).

O grau de hidratação do estrato córneo é um fator bastante importante na determinação da taxa de absorção percutânea de fármacos, contudo, diversos os fatores afetam o conteúdo de água e a função de barreira da pele, como os fatores ambientais (tempo seco, oscilações de temperatura, exposição ao vento, por exemplo), fatores patológicos e uso de formulações tópicas fora dos padrões aceitáveis (MELO; CAMPOS, 2016).

A derme (Figura 4C) está envolvida pelo tecido conjuntivo denso, formado por várias células (fibroblastos, granulócitos e macrófagos). Os fibroblastos sintetizam macromoléculas que constituem a matriz extracelular, formada por elastina, glicosaminoglicanos, glicoproteínas de estrutura e colágeno, sendo esse composto o responsável pela rigidez e integridade da pele, correspondendo a 75% da derme. É nessa camada da pele, que encontramos as raízes dos pelos, as glândulas, terminações nervosas, além dos vasos sanguíneos e linfáticos (FOLDVARI, 2000; FERREIRA, 2017).

Figura 4: Esquema gráfico representando as camadas da pele humana.



Legenda: A – estrato córneo; B – epiderme; C – derme; D – hipoderme.
Fonte: Adaptação de NERY (2017), site “Portal Ped”.

A hipoderme (Figura 4D) refere-se ao tecido que une a derme aos órgãos profundos. Esta camada da pele é nutrida por arteríolas e vênulas, tendo sua organização variando de pessoa para pessoa, o local do corpo e nutrição do indivíduo. É formada por tecido conjuntivo adiposo, atua como tecido de barreira térmica e amortecedor mecânico (FERREIRA, 2017).

A hipoderme é capaz de sintetizar e armazenar, de forma rápida, substâncias energéticas prontamente disponíveis desempenhando, a função termogênica e energética, onde, através da lipólise, ácidos graxos são liberados (AULTON; TAYLOR, 2016; GUYTON; HALL, 2017).

2.5.5.2 Desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas

No desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas os emulsificantes e agentes geleificantes de escolha para formulações do creme e gel, respectivamente, devem ser escolhidos após avaliação da sua atuação sob a velocidade de liberação do IFA, propriedade de adesão e textura da formulação (LEITE, 2009; ALLEN Jr., POPOVICH; ANSEL, 2013).

Quadro 3: Exemplos de excipientes utilizados em formas farmacêuticas líquidas com suas respectivas classificações e funções.

TIPO DE EXCIPIENTE	FUNÇÃO	EXEMPLOS
Conservantes	Previnem o crescimento microbiano	Ácido benzóico, benzoato de sódio, cloreto de benzalcônio, cresol, etanol, fenol, parabenos (etil-, metil-, butil-, propil-), entre outros.
Corantes	Melhoram aparência da formulação, conferindo cor	Existem inúmeros corantes utilizados com essa finalidade farmacêutica, tendo origem sintética, natural e mineral.
Corretores de pH	Soluções para ajuste de pH	Ácidos (como, ácido cítrico), álcalis (como, hidróxido de sódio) e tampões (como citrato, acetato, fosfato e carbonato).
Corretivos de viscosidade	Conferem maior consistência à formulação	Carbômeros (Carbopol®), carboximetilcelulose (CMC), hidroxietilcelulose (Natrosol®), entre outros.
Edulcorantes	Conferem sabor doce a formulação	Aspartame (200*), ciclamato, dextrose, manitol, sacarina (300*), sacarose, sorbitol, stevia (200-300*), sucralose (600*), xilitol, entre outros.
Estabilizantes	Garantem estabilidade química e física do IFA	Antioxidantes (como metabissulfito de sódio, sulfito de sódio, bissulfato de sódio e ácido ascórbico) ou agentes quelantes (como o edetatodissódico – EDTA).
Flavorizantes	Tornam as formulações agradáveis ao paladar/olfato	Existem inúmeros flavorizantes utilizados com essa finalidade farmacêutica, apresentando sabores sintéticos ou naturais.
Veículos	Componente da solução oral que se apresenta em maior quantidade na formulação	Água purificada, álcool etílico, glicerina, propilenoglicol, sorbitol, óleos vegetais, óleo mineral, entre outros.

Legenda: *- doçura relativa quando comparado à sacarose, considerando que o poder de doçura da sacarose igual a 1 (CAVAGNARI, 2019).

Fonte: LEITE, 2009; ALLEN Jr., POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016.

O estudo dos principais veículos para as formulações torna-se uma perspectiva muito importante, pois esses podem modificar a condição da superfície cutânea ou protegê-la, conferindo uma influência direta na ação do IFA (LEITE, 2009).

Estudos apontam uma variação da eficácia de um mesmo extrato vegetal na mesma concentração e sob a mesma forma farmacêutica (semissólida), porém manipuladas a partir de diferentes veículos. Ou seja, esse composto pode impactar na permeação cutânea do IFA e, conseqüentemente, em sua atividade terapêutica (LEITE, 2009).

Os cremes apresentam-se como “a forma farmacêutica semissólida que consiste de uma emulsão, formada por uma fase lipofílica e uma fase hidrofílica. Contém um ou mais princípios ativos dissolvidos ou dispersos em uma base apropriada e é utilizada, normalmente, para aplicação externa na pele ou nas membranas mucosas” (BRASIL, 2019a).

Como sistema que sofre emulsificação, os cremes, podem apresentar fase interna oleosa e fase externa aquosa, sendo classificados como emulsões óleo-em-água (O/A), ou podem ser classificados como emulsões água-em-óleo (A/O) caso possuam estruturação contrária (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Já os geis são caracterizados como “a forma farmacêutica semissólida de um ou mais princípios ativos que contém um agente gelificante para fornecer firmeza a uma solução ou dispersão coloidal” (BRASIL, 2019a), sendo o seu estado semissólido alcançado pelo aumento da viscosidade após formação da rede tridimensional intrínseca e o conseqüente atrito interno (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Para os geis hidrofílicos, nos espaços presentes entre a rede tridimensional entrelaçada, existe a fase contínua onde água e IFA coexistem. Contudo, as disposições tortuosas desses mesmos interstícios influenciam na taxa de liberação do IFA (AULTON; TAYLOR, 2016).

Portanto, no desenvolvimento de forma farmacêutica semissólida gel torna-se relevante a análise tanto do comportamento da forma farmacêutica frente a uso de polímeros com diferentes massas moleculares e em diferentes concentrações, pois altas concentrações de polímero podem diminuir a formação de espaços na malha polimérica e reter o IFA, afetando a permeação cutânea e atividade terapêutica (AULTON; TAYLOR, 2016).

A permeação cutânea e atividade terapêutica também podem sofrer interferência pelas próprias peculiaridades dos IFAs, como o seu coeficiente de partição O/A e sua penetração na pele por meio dos folículos pilosos, poros, glândulas sudoríparas e outras estruturas da pele (LEITE, 2009; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

O IFA veiculado em uma forma farmacêutica semissólida precisa não só ter uma facilidade em penetrar o estrato córneo (natureza lipofílica), mas também ter poder de dispersar-se nas regiões de natureza hidrofílica da pele. Sendo, assim, justificável o desenvolvimento de fitoterápicos tópicos com ação local e, poucas vezes, com finalidade sistêmica (LEITE, 2009).

Diante desse aspecto, excipientes caracterizados como promotores de absorção são utilizados, a fim de modificar a barreira cutânea e aumentar a permeabilidade dos compostos. Contudo, devem garantir que esse processo seja reversível e, assim como os demais excipientes a serem selecionados, deve desempenhar função específica na formulação, de forma segura e adequada para administração, além de também conferir estabilidade e aceitação da formulação tópica (LEITE, 2009; AULTON; TAYLOR, 2016).

No quadro 4 estão expostas todas as classes, funções e exemplos dos constituintes que podem fazer parte da formulação de cremes e geis, atendendo os critérios já mencionados e sendo utilizados a depender da finalidade pretendida.

2.5.5.3 Controles de qualidade aplicáveis às formas farmacêuticas semissólidas

Dentre os controles de qualidade aplicáveis as formas farmacêuticas semissólidas pode-se citar: aspectos visuais e sensoriais, medidas de pH e avaliação do comportamento reológico (GIL, 2010; BRASIL, 2019a).

Sabendo-se que as características organolépticas (aparência visual, cor, aroma e análise sensorial) são fatores que interferem diretamente na aceitação dos produtos, têm-se também a ciência de que formulações que apresentam “má aparência” não possuem estabilidade física e apresentam um perfil de liberação de fármaco bastante aleatório (AULTON; TAYLOR, 2016).

Quanto a determinação do pH, em especial, para as formulações de uso tópico, três aspectos devem ser levados em consideração: tempo de permanência sob a pele, estabilidade dos constituintes da formulação e tolerância biológica para produtos tópicos (GUIMARÃES, 2018; SILVA; TORRES, 2019).

Diante de uma forma farmacêutica semissólida desenvolvida com o intuito de permanecer por um longo período de tempo sob a pele, a mesma deve apresentar um pH entre 4,0 a 7,0 (SILVA; TORRES, 2019), de forma que o pH ideal garanta tanto a estabilidade dos compostos, quanto a estabilidade geral da formulação, aceitando-se ainda uma variação de um pH da formulação entre 5,5 e 8,0 (SILVA et al., 2009a; GUIMARÃES, 2018).

Uma pele saudável e íntegra apresenta-se em uma faixa de pH levemente ácida, como forma de manutenção da proteção bactericida e fungicida na superfície (LEONARDI; GASPAR; CAMPOS, 2002), contudo, em um tecido lesionado (com ferida, por exemplo), o pH mesmo que apresentando-se ainda ligeiramente ácido (5,8-6,6) pode ter essa faixa afetada por secreções (CAMPOS; MORE; ARRUDA, 2007). Diante disso, a tolerância dérmica para produtos tópicos deve ser analisada, sendo a avaliação do pH um fator primordial em todas as etapas de desenvolvimento de uma nova forma farmacêutica.

Outro fator determinante na escolha de formulações semissólidas refere-se ao estudo do comportamento reológico, sendo essa uma medição amplamente utilizada para avaliação da estabilidade das formulações (MILAN et al., 2007; AULTON; TAYLOR, 2016). A reologia (termo inventado por Bingham e formalmente adotado em 1929) pode ser realizada a partir das análises de consistência (como a espalhabilidade, por exemplo) e das medidas de viscosidade (GIL, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016).

Quadro 4: Exemplos de excipientes utilizados em formas farmacêuticas semissólidas com suas respectivas classificações e funções.

Tipo de excipiente e Função	Exemplos	F.F.	
		Creme	Gel
Agentes emulsionantes (Interpõem-se entre a fase dispersa e dispersante da formulação)	<ul style="list-style-type: none"> - Emulsionantes sem carga (não iônicos): ácidos graxos de ésteres de polietilenoglicol, polissorbitos (20, 40, 60, 80), entre outros. - Emulsionantes com carga negativa (aniônicos): laurilsulfato de sódio, sais monovalentes de ácidos graxos (estearato de sódio), entre outros. - Emulsionantes com carga positiva (catiônicos): compostos quaternários de amônio (como a cetrimida), entre outros. - Anfifílicos graxos: álcool cetílico e esteárico, monoestearato de glicerila, entre outros. 	X	

Tipo de excipiente e Função	Exemplos	F.F.	
		Creme	Gel
Agentes neutralizantes (Promovem gelificação de polímeros)	Aminometilpropanol, hidróxido de sódio, trietanolamina, entre outros.		X
Agentes solubilizantes	Óleo de rícino hidrogenado e etoxilado, polissorbato 20, entre outros.		X
Conservantes (Previnem o crescimento microbiano)	Ácido benzóico, benzoato de sódio, cloreto de benzalcônio, cresol, etanol, fenol, parabenos (etil-, metil-, butil-, propil-), entre outros.	X	X
Corretores de pH (Soluções para ajuste)	Ácidos (como, ácido cítrico); álcalis (como, hidróxido de sódio), entre outros.	X	X
Espessantes ou agentes geleificantes (Conferem maior consistência à formulação a partir da absorção e intumescimento no veículo)	Carbômeros (Carbopol [®]), CMC, hidroxietilcelulose (Natrosol [®]), polímeros naturais, como as carrageninas, entre outros.		X
Estabilizantes (Garantem estabilidade química e física do IFA)	Antioxidantes (como Metabissulfito de sódio, sulfito de sódio, bissulfato de sódio, hidroxitolueno butilado (BHT) ou agentes quelantes (como o EDTA).	X	X
Promotores de permeação (Favorecem permeação do IFA)	Água, etanol, laurilsulfato de sódio, propilenoglicol, polissorbato, entre outros.	X	X
Umectantes (Promovem solubilidade de IFA e conservantes, além de retardar a evaporação da água)	Glicerina, propilenoglicol, entre outros.	X	X

Tipo de excipiente e Função	Exemplos	F.F.	
		Creme	Gel
Veículos (Responsáveis pela característica hidrofílica ou hidrofóbica da formulação)	Água purificada, álcool etílico, isoparafinas, óleo mineral, silicones, entre outros.	X	X

Legenda: F.F.- Forma Farmacêutica; X- essa classe de excipientes faz parte da composição dessa forma farmacêutica semissólida (creme ou gel).

Fonte: LEITE, 2009; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016.

Outro fator determinante na escolha de formulações semissólidas refere-se ao estudo do comportamento reológico, sendo essa uma medição amplamente utilizada para avaliação da estabilidade das formulações (MILAN et al., 2007; AULTON; TAYLOR, 2016). A reologia (termo inventado por Bingham e formalmente adotado em 1929) pode ser realizada a partir das análises de consistência (como a espalhabilidade, por exemplo) e das medidas de viscosidade (GIL, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016).

A espalhabilidade de uma formulação de uso tópico tem importância na aderência na pele, remoção da formulação das embalagens e liberação dos princípios ativos (COSTA, 2010). A modificação no padrão da espalhabilidade (aumento ou diminuição) pode ser alcançada a partir de alterações nos excipientes (ASSUNÇÃO, 2017), de forma que o quanto mais agradável a formulação se apresentar ao ser aplicada (ou seja, ter espalhabilidade ótima para a finalidade pretendida), mesmo com a administração de uma pequena quantidade da preparação, a eficácia terapêutica será semelhante (BORELLA et al., 2010).

Além disso, a espalhabilidade relaciona-se com a manutenção da função de barreira da pele (ASSUNÇÃO, 2017). A promoção de oclusão no tecido, leva a privação da evaporação de fluidos, podendo favorecer eventos como a contaminação microbológica da pele (FLANAGAN, 2013; CRONEMBERGER; PAULA; MEIRELLES, 2015), sendo esse um agravo diante da sua integridade.

Juntamente com a espalhabilidade, a viscosidade agrega informações ao estudo reológico das formulações semissólidas, não só fornecendo dados quanto à caracterização e classificação das amostras, mas também auxiliando no desenvolvimento, obtenção e avaliação do comportamento de formas farmacêuticas (AULTON; TAYLOR, 2016).

A viscosidade é conceituada como a “resistência de um fluido ao fluxo ou ao movimento”, e a partir das informações obtidas por essa análise, os fluídos podem ser

classificados, quanto ao seu comportamento, em duas classes: fluídos newtonianos, referente às amostras que obedecem à Lei de Newton; ou fluídos não newtonianos, sendo a classificação em que os fluídos de uso farmacêuticos estão mais inseridos (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Para os fluídos newtonianos, independente da velocidade de cisalhamento ou da força aplicada, a viscosidade permanece constante (LAHOUD; CAMPOS, 2010) (Figura 5A), enquanto que os fluídos não newtonianos sofrem alterações na sua viscosidade, conforme variação da velocidade de cisalhamento (Figura 5 B-D). Esses podem ser classificados quanto às características de deformação e quanto ao seu comportamento dependente do tempo (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016).

Quanto às características de deformação, classificam-se em: plásticos (de Bingham), pseudoplásticos ou dilatantes. Os Fluídos Não Newtonianos plásticos, na sua fase inicial necessitam de uma tensão de cedência, ou seja, é necessária que uma força prévia seja aplicada para que o fluído possa fluir. Até atingir a tensão de cedência, o fluído apresenta comportamento elástico, tendo um consequente comportamento linear (ou quase linear) após esse valor (LAHOUD; CAMPOS, 2010) (Figura 5B).

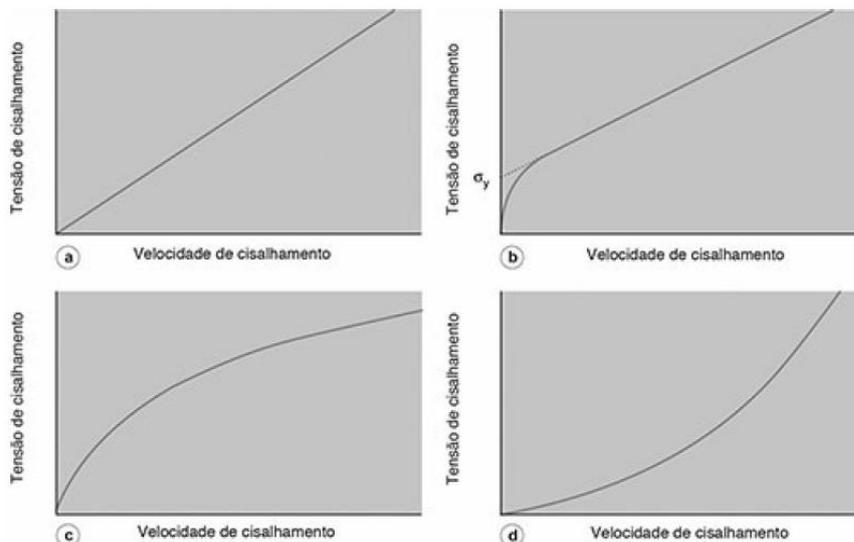
Como pode ser visto na Figura 5C, os fluídos pseudoplásticos têm diminuição da viscosidade após aumento na taxa de cisalhamento (ou gradiente de velocidade) (LAHOUD; CAMPOS, 2010; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; TAYLOR, 2016), tendo também uma diminuição na energia de manutenção do fluxo, fato que apresenta-se como uma característica vantajosa em formulações de uso tópico, pois reflete diretamente na facilidade de aplicação (MORAIS, 2006; ANTONIO, 2007).

Já os fluídos não newtonianos dilatantes (Figura 5D) têm aumento da viscosidade quando expostos a uma elevada velocidade de cisalhamento, sendo esse um evento reversível (LAHOUD; CAMPOS, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016).

Ao avaliar o comportamento reológico de um fluído não newtoniano e este apresentar uma redução reversível, de acordo com o tempo, pode-se classificar esse fluído como tixotrópico (Figura 6). Essa avaliação consiste na exposição de um material a um gradiente de velocidade crescente e, logo em seguida, um gradiente de velocidade decrescente.

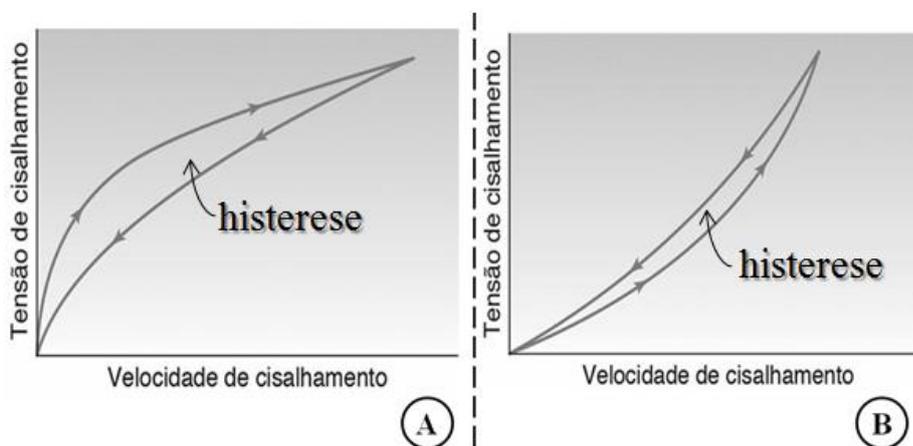
Diante desse efeito, alguns fluídos podem apresentar uma área entre as curvas ascendentes e descendentes, chamada de alça ou *loop* de histerese, podendo, a depender da amostra, a curva descendente estar disposta em um plano inferior (Figura 6A) ou superior (Figura 6B), quando comparada com a curva ascendente (LAHOUD; CAMPOS, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016).

Figura 5: Representação de reogramas de acordo com o comportamento de vários materiais



Legenda: (a) Fluido Newtoniano; (b) Fluido Não Newtoniano plástico; (c) Fluido Não Newtoniano pseudoplástico; (d) Fluido Não Newtoniano dilatante.
Fonte: AULTON; TAYLOR, 2016.

Figura 6: Representação de comportamento reológico de fluidos não newtonianos dependente do tempo.



Legenda: A- Reograma referente a material tixotrópico pseudoplástico; B- Reograma referente a material tixotrópico dilatante.

Fonte: Adaptação AULTON; TAYLOR, 2016.

2.6 PADRONIZAÇÃO QUÍMICA DAS FORMAS FARMACÊUTICAS

Como já citado, o favorecimento da padronização química do IFA vegetal, seja no extrato fluido ou seco, é importante para a reprodutibilidade dos efeitos, quando esses são incorporados a formulações fitoterápicas, por exemplo (TOLEDO et al., 2003; LEITE, 2009).

Dessa forma, dentro dos processos do desenvolvimento de fitoterápicos, leva-se em consideração não só os aspectos botânicos e farmacológicos associados à espécie, mas,

principalmente, a qualidade associada à composição química (TOLEDO et al., 2003).

Contudo, “as análises qualitativas e quantitativas necessárias para a determinação do(s) principal(ais) ativo(s), devem ser realizadas de acordo com a especificidade de cada um” (GIL, 2010).

A forma de dosagem em produtos fitoterápicos obtidos baseia-se na padronização de marcadores químicos, por meio de testes qualitativos e/ou quantitativos, desenvolvidos e validados de acordo com cada material vegetal (GIL, 2010; ANVISA, 2018). As técnicas mais utilizadas incluem a titulação, espectroscopia na região do ultravioleta visível (UV-vis), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (LEITE, 2009).

Devido à complexidade da composição vegetal, a padronização química torna-se um desafio, visto que oscilações na concentração e variabilidade dos ativos ocorrem rotineiramente e sofrem inúmeras interferências (GIL, 2010), necessitando-se um alinhamento e repetição de todos os parâmetros utilizados na obtenção da droga vegetal e seus derivados (extrato vegetal fluido, semissólido ou seco) (LEITE, 2009).

Modificações dos critérios de obtenção do extrato, como variação do tipo de solvente extrator, temperatura e tempo de extração, por exemplo, são fatores que afetam na sua constituição química final que, conseqüentemente, afeta a dosagem e a resposta terapêutica (LEITE, 2009).

Assim, diante da uniformidade da quantidade/concentração de marcador químico vegetal, pode-se realizar a incorporação do IFA em uma forma farmacêutica de maneira segura (GIL, 2010).

3 METODOLOGIA

3.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas de *V. multispicata* foram coletadas no mês de março de 2018, no município de Castanhal-PA e, posteriormente, um ramo (de aproximadamente 20 cm) foi encaminhado para o Herbário da Embrapa Amazônia Oriental, onde a exsicata foi registrada (IAN-188979).

Conforme previsto pela Lei 13.123/2015 (que dispõe sobre “o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade” (BRASIL, 2015)), *V. multispicata* foi cadastrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob o número A009BAA.

As folhas coletadas foram selecionadas, lavadas com água corrente, sanitizadas com hipoclorito a 0,1% (p/v) e secas em estufa de ar circulante (a 45 °C, durante 52 horas) (LOPES, 2017; LOPES et al., 2019). Após secagem, as folhas foram trituradas em liquidificador, obtendo-se a droga vegetal que foi devidamente armazenada em recipiente de vidro, devidamente lacrado, livre de umidade e de contaminantes.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL

3.2.1 Determinação da matéria estranha

A porcentagem de matéria estranha foi obtida seguindo a metodologia descrita na FB, 6ª ed., em triplicata (BRASIL, 2019a). Por meio do método de quarteamento, 25 g da amostra foram espalhadas sob uma superfície plana, realizando a separação manual das matérias estranhas da droga vegetal. Em seguida, o material separado foi pesado e a porcentagem de matéria estranha foi calculada de acordo com o peso da amostra utilizada para o experimento.

3.2.2 Determinação da distribuição granulométrica do pó

A determinação da distribuição granulométrica do pó foi realizada segundo a descrição encontrada na FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a). Cerca de 25g da droga vegetal foram transferidos para o tamis superior, distribuindo-a uniformemente sob a superfície do mesmo.

O conjunto de tamises selecionado (ABNT/ ASTM) (Tabela 1) foi tampado e o aparelho foi acionado, por 15 minutos, com vibração adequada e constante. Após os 15 minutos, com o auxílio de um pincel, foi removida toda a droga vegetal retida na superfície superior de cada tamis e também do coletor para um papel impermeável, e pesado o pó. A análise foi realizada em triplicata.

Tabela 1: Abertura de malha do conjunto de tamises selecionado.

Número do Tamis (ABNT/ ASTM)	Abertura do Tamis (µm)
20	850 µm
30	600 µm
40	425 µm
60	250 µm
100	150 µm
200	125 µm

Fonte: Adaptado da FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a).

Foi realizada a classificação da droga vegetal, conforme FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a), que descreve os pós como: grosso, pó moderadamente grosso, pó semifino, pó fino ou pó finíssimo. O cálculo do percentual de droga vegetal retida em cada tamis foi realizado a partir da seguinte fórmula:

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = \frac{P1}{P2} \times 100$$

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.

3.2..3 Determinação da perda por dessecação

A determinação da perda por dessecação foi obtida seguindo a metodologia descrita na FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a). Cerca de 2 g da droga vegetal foram pesados juntamente com os pesa-filtros tampados (previamente dessecados durante 30 minutos, a 105°C, e resfriados em dessecador).

Ao serem colocados na estufa, foram retiradas as tampas dos pesa-filtros e deixadas também na estufa, onde a amostra foi seca a 105°C, por 2 horas. Após este período, os pesa-filtros foram colocados para esfriar no dessecador e a pesagem foi realizada. Esse procedimento foi repetido até a obtenção do peso constante e foi realizado em triplicata.

A porcentagem de perda por dessecação foi calculada através da fórmula:

$$\% \text{ perda por dessecação} = \frac{P_u - P_s}{P_m} \times 100$$

Onde:

P_m = peso da amostra;

P_u = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação;

P_s = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação.

3.2.4 Determinação do teor de cinzas totais

A determinação do teor de cinzas totais foi realizada em triplicata, onde foram pesados cerca de 3 g da droga vegetal pulverizada e transferidos para cada cadinho, previamente dessecado a 200°C, por 30 minutos. A amostra foi distribuída uniformemente e incinerada, sendo utilizado o seguinte gradiente de temperatura: 30 minutos a 200°C, 60 minutos a 400°C e 90 minutos a 600°C; até que todo o carvão fosse eliminado. Após este procedimento, os cadinhos foram novamente pesados e a porcentagem de cinzas foi calculada em relação à droga seca ao ar (BRASIL, 2019a).

3.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO

O extrato aquoso de *V. multispicata* foi obtido pelo processo de infusão na proporção de droga:solvente 1:10 (p/v), a 100 °C por 30 minutos (LOPES, 2017; LOPES et al., 2019). Em seguida, foi filtrado utilizando algodão, e armazenado em recipiente adequado, sendo preparado a cada dia de uso, para evitar contaminação microbiológica e/ou interferência nas análises experimentais.

3.3.1 Determinação de resíduo seco

Em pesa-filtro, cerca de 2 mL do extrato aquoso foram evaporados (em banho-maria), e logo, em seguida foram dessecados em estufa a 100-105°C, por 3 horas. Após este período, o pesa-filtro foi esfriado em dessecador e pesado (BRASIL, 2019a). Este procedimento foi realizado em triplicata e o resultado expresso em porcentagem m/m ou em g/L, de acordo com a FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a).

3.3.2 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada utilizando cerca de 25 mL do extrato aquoso em pHmêtro Micronal® (modelo B474), previamente calibrado. O resultado foi expresso pela média de três determinações, descrita de acordo com a FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a).

3.3.3 Determinação de densidade relativa

Foi transferido o extrato aquoso de *V. multispicata* para um picnômetro de 25 mL, previamente calibrado, removendo o excesso do líquido com o auxílio de um papel absorvente e pesado. O peso da amostra foi obtido através da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio, ambos a 20°C. Esta metodologia foi uma adaptação de BRASIL, 2019a.

O procedimento foi realizado em triplicata e a densidade relativa foi determinada por meio da seguinte fórmula:

$$P_{20} = 0,99820 \times d_{20}^{20} + 0,0012$$

Onde:

P_{20} = Densidade da massa;

0,99820 g/mL = Densidade da água na temperatura de 20°C;

d_{20}^{20} = Densidade relativa.

3.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO

O extrato seco foi obtido através do processo de secagem por liofilização (liofilizador LIOTOP®, modelo L101). O extrato aquoso preparado foi distribuído em

recipientes de alumínio adequados e submetido a congelamento por cerca de 72 horas. Em seguida, esses recipientes foram transferidos para o liofilizador, utilizando-se os seguintes parâmetros: 24 µHg, 211 Vca a uma temperatura de -57°C, durante 5 dias. O extrato seco obtido foi colocado em recipiente adequadamente vedado, sob o abrigo da luz e armazenado em dessecador, a fim de evitar captação de umidade e degradação.

3.4.1 Determinação da umidade

Também foi realizada a determinação de umidade do extrato seco de *V. multispicata* utilizando método gravimétrico, através da perda por dessecação descrita na FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a).

3.4.2 Análise da solubilidade do extrato seco liofilizado de *V. multispicata*

Visto que o extrato seco de *V. multispicata* apresenta pouca ou nenhuma solubilidade frente a alguns solventes, e tendo como propósito principal otimizar o processo de desenvolvimento e obtenção da forma farmacêutica líquida, foi realizada a análise da solubilidade do mesmo.

A análise da solubilidade do extrato seco foi realizada conforme metodologia descrita na FB, 6ª ed. (2019), levando em consideração que o número de partes refere-se à “quantidade de mililitros de solvente analisado por grama de sólido a ser dissolvido” (BRASIL, 2019a).

Primeiramente, foi realizada a tamisação do extrato seco de *V. multispicata* em tamis com abertura de 250 µm (tamis ABNT/ASTM 60), durante 15 minutos, a fim de se obter um pó com partículas inferiores a essa abertura de malha.

Com o extrato seco obtido após tamisação, foi realizada análise da solubilidade com excipientes que se adequavam para utilização como solvente ou cossolvente da solução oral pretendida. Dessa forma, foram escolhidos os seguintes solventes: água destilada, glicerina (Fmaia[®], Lote: 42272), propilenoglicol (Apsen Farmacêutica[®], Lote: 2008E4445) e sorbitol (Dinâmica[®], Lote: 98652).

Ao fim do teste, o extrato seco foi classificado de acordo com os dados descritos na Tabela 2.

Tabela 2: Termos descritivos de solubilidade.

Termo descritivo	Volumes aproximados de solvente em mililitros por gramas de substância
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Moderadamente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10000 partes

Fonte: BRASIL, 2019a.

3.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise foi realizada em parceria com o Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA). Inicialmente, o extrato seco de *V. multispicata* foi fixado em fita de dupla face de carbono e metalizado com ouro em um ciclo de 60 segundos por 6 minutos (Metalizador Quorum®, Q150T). Em seguida, a amostra foi analisada por microscopia eletrônica (microscópio EVO® modelo LS 15 - ZEISS, operado em 10KV).

3.4.4 Prospecção fitoquímica

Em parceria com o Núcleo de Desenvolvimento Analítico e Tecnológico de Fitoterápicos (NUDATEF/UFPE), foi realizada a prospecção fitoquímica do extrato seco de *V. multispicata*, utilizando a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD), conforme Wagner e Bladt (1996).

Aproximadamente 1 g do extrato seco foi solubilizado em 1 mL de metanol, em *eppendorf*, sendo, logo em seguida, submetido à agitação, até solubilização completa. Todas as classes de metabólitos secundários e padrões químicos utilizados nessa triagem estão apresentados no Quadro 5. Com auxílio de um capilar de vidro, tanto as amostras, quanto os padrões foram aplicados em placas cromatográficas de sílica gel 60 – F₂₅₄ (distância padrão de 5 cm da base e dos pontos de aplicação da amostra/padrão), sendo eluídas em cubas saturadas com o sistema móvel específico (Quadro 5), utilizando reagentes grau analítico durante todo experimento.

Após secagem à temperatura ambiente, as placas foram visualizadas sob a luz ultravioleta (254 e 365 nm e/ou luz visível, de acordo com o metabólito avaliado), reveladas com os agentes cromogênicos específicos (Quadro 5) e fotografadas (Fotodocumentador, modelo MULTIDOC-IT 125 TLC, UVP®). As bandas obtidas foram analisadas de acordo com o fator de retenção (Rf).

O teste de espuma para avaliação de saponinas na amostra de *V. multispicata* foi realizado, seguindo a metodologia da Sociedade Brasileira de Farmacognosia (2009).

Quadro 5: Padrões químicos, sistemas eluentes e agentes cromogênicos utilizados na triagem fitoquímica do extrato seco de *V. multispicata*.

Classe de Metabólitos	Padrões	Sistema eluente (v/v)	Agentes cromogênicos	
Alcaloides	Atropina	70:20:10 ^A	Dragendorff	
Cumarinas	Cumarina	50:50:50 ^B	Hidróxido de potássio 10% + Δ	
Derivados antracênicos	Senosídeo A	40:40:29:1 ^C	Ácido nítrico + Δ + Hidróxido de potássio 10%	
Derivados cinâmicos	Ácido cafeico	90:5:5 ^D	Cloreto de alumínio ou difenilboriloxietilamina + polietilenoglicol	
Flavonoides	Rutina			
Taninos condensados	Catequina			Vanilina clorídrica + Δ
Taninos hidrolisados	Acido gálico			Cloreto férrico
Saponinas	Escina	60:32:12:8 ^E	Anísaldeído sulfúrico	
Terpenos e esteroides	β-sitosterol	70:30 ou 90:10 ou 97:3 ^F	Liebermann-Burchard + Δ	

Legenda:^Atolueno: acetato de etila: dietilamina; ^B éter etílico: acetato de etila: saturado com ácido acético 10%; ^C n-propanol: acetato de etila: água: ácido acético glacial; ^D acetato de etila: ácido fórmico: água; ^E clorofórmio: ácido acético glacial: metanol: água; ^F tolueno: acetato de etila.

Fonte: Adaptado de Wagner e Bladt (1996).

3.4.5 Doseamento de compostos fenólicos

O doseamento dos compostos fenólicos totais no extrato seco de *V. multispicata* foi realizado pelo método espectrofotométrico (SINGLETON et al., 1999), realizado em parceria

com a Prof^a Dr^a. Cláudia Sampaio de Andrade Lima, no Laboratório de Biotecnologia de Produtos Naturais (Bionat - UFPE).

Foi utilizado o extrato na concentração de 1 mg/mL, reagindo com 0,5 mL de solução metanólica, 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu (10%) e 2,5 mL de NaHCO₃ a 7,5%. O branco foi preparado concomitantemente. Após pipetagem, a amostra e o branco foram incubados em banho termostatizado a 45°C, durante 45 min.

A absorbância foi determinada usando o espectrofotômetro UV-vis com a leitura do comprimento de onda a 765 nm (λ). As amostras (1000, 750, 500 e 250 μ g/mL) foram preparadas em triplicata para cada análise e o valor médio foi obtido. O mesmo procedimento foi repetido para a solução padrão de ácido gálico e a curva de calibração foi determinada. A concentração de compostos fenólicos foi calculada (mg/mL) e resultado foi expresso em termos de equivalentes de ácido gálico (mg de AG/g de extrato) (STANKOVIC, 2011).

3.5 ANÁLISE DO PERFIL TÉRMICO

O perfil térmico da droga vegetal e do extrato seco de *V. multispicata* foi obtido através da Termogravimetria (TGA) e Termogravimetria Derivada (DTA), seguindo metodologia adaptada de SILVA (2019a). Foram realizados em sistema de Análise Térmica Diferencial/Termogravimétrica, Shimadzu[®] (modelo DTG-60H), sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (100 mL.min⁻¹) e razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Cerca de 5mg de cada uma das amostras foram analisadas em um intervalo de temperatura de 30° a 600°C. A calibração do equipamento foi realizada na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, utilizando como padrão o oxalato de cálcio. As curvas termogravimétricas (TG) obtidas foram analisadas por meio do software TA 60[®] e os gráficos montados com auxílio do software Origin[®] 8.0.

3.6 OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DAS FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE DE *V. multispicata*

Para o desenvolvimento das formas farmacêuticas propostas, foi realizada uma prévia seleção dos excipientes indicados para solução oral, creme e gel, capazes de veicular o extrato (seco ou aquoso), de forma que as características desejadas para administração fossem garantidas.

Dessa forma, foi elaborado um estudo de planificação qualitativa e quantitativa para seleção dos excipientes e suas respectivas concentrações. A partir dos dados obtidos, foi

realizado também o estudo de compatibilidade com cada um dos excipientes escolhidos e realizados os controles de qualidade específicos para cada formulação (conforme descrito nas subseções 3.6.1, 3.6.2 e 3.6.3).

3.6.1 Forma Farmacêutica Solução oral à base de *V. multispicata*

Para a fase de desenvolvimento da formulação da solução oral à base do extrato seco de *V. multispicata* foram utilizados os seguintes excipientes: sorbitol (Dinâmica[®], Lote: 98652), metilparabeno (Lote: 347M1014), essência de chocolate (Martflavor[®], Lote: 19100025), sucralose (EIC do Brasil[®], Lote: 88501) e água destilada.

3.6.1.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*

Para a realização do estudo de compatibilidade, foram preparadas misturas binárias na proporção de 1:1 (p/p) dos excipientes e do extrato seco liofilizado de *V. multispicata*. A Tabela 3 mostra os excipientes finais utilizados na forma farmacêutica líquida desenvolvida.

O teste de compatibilidade entre extrato seco e excipientes seguiu todos os parâmetros já descritos anteriormente na metodologia da seção 3.5.

Tabela 3: Excipientes utilizados no desenvolvimento da solução oral a base de *V. multispicata* com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.

Forma farmacêutica	Excipientes	Função	%
Solução oral	Sorbitol	Cossolvente	20,00-35,00 ^A
	Sucralose	Edulcorante	0,03-0,24 ^A
	Metilparabeno	Conservante	0,015-0,20 ^A
	Essência de chocolate	Flavorizante	0,10-0,20 ^B
	Água destilada	Veículo	q.s.p.

Legenda: ^A: Handbook, 6^a ed. (Rowe; Sheskey; Quinn, 2009); ^B: Martflavor Indústria e Comércio de Aromas.
Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.1.2 Obtenção da solução oral à base do extrato seco de *V. multispicata*

Para a obtenção da solução oral à base do extrato seco de *V. multispicata* foi realizado um planejamento quantitativo de compostos, para determinação dos melhores excipientes e

concentrações, baseando-se nos resultados obtidos no teste de solubilidade anteriormente realizado (subseção 3.4.2).

O extrato seco foi utilizado a uma concentração de 15 mg/mL, de acordo com os estudos de Lopes (2017) e Lopes e colaboradores (2019). No início do processo de obtenção da forma farmacêutica líquida, o extrato seco foi adicionado ao sorbitol sob agitação constante e, logo em seguida, foi sonicado, por aproximadamente 30 min, até completa solubilização. A segunda etapa do processo de obtenção consistiu na adição do conservante (metilparabeno) à água destilada aquecida, até completa solubilização do mesmo seguindo-se da adição de sucralose, como edulcorante. Homogeneizou-se.

Adicionou-se à mistura um pouco de água destilada, à temperatura ambiente. Homogeneizou-se. Adicionou-se a essência de chocolate. Homogeneizou-se. Mediu-se o pH e verificou-se se o mesmo encontrava-se na faixa entre 6,0 e 7,0 (AULTON; TAYLOR, 2016) já que existem poucos relatos da degradação do IFA, por hidrólise, em pH neutro (SILVA et al., 2011), além de ser um pH adequado para administração oral.

O ajuste do pH da formulação foi realizado, quando necessário, utilizando ácido cítrico ou hidróxido de sódio. Completou-se o volume para 50 mL, com água destilada. Homogeneizou-se. A solução oral foi envasada em frasco âmbar hermeticamente fechado.

Nessa fase inicial do desenvolvimento da forma farmacêutica líquida, foram obtidos três lotes de bancada (LBs I ao III), contendo, cada LB, o volume final de 50 mL (Tabela 4).

Tabela 4: Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento da solução oral à base de *V. multispicata*

Componente	LB I (%)	LB II (%)	LB III (%)
Extrato seco de <i>V. multispicata</i>	1,50	1,50	1,50
Sorbitol	25,00	30,00	35,00
Metilparabeno	0,20	0,20	0,20
Sucralose	0,10	0,10	0,10
Essência de chocolate	0,10	0,10	0,10
Água destilada	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

Legenda: LB – Lote de bancada; q.s.p – quantidade suficiente para completar o volume.

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.1.3 Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis à solução oral

No controle de qualidade da forma farmacêutica líquida (solução oral à base de *V. multispicata* – LB I, LB II e LB III), foram realizadas as seguintes análises: características organolépticas da solução oral obtida (cor, aparência visual, aroma e sabor da formulação final), determinação do pH (conforme metodologia descrita na subseção 3.3.2) e determinação da densidade (conforme metodologia descrita na subseção 3.3.3).

3.6.1.4 *Fingerprint* da solução oral por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Esta análise foi desenvolvida e realizada em parceria com o Prof. Dr. Milton Nascimento da Silva e a Prof^a Dr^a. Consuelo Y. Yoshioka e Silva, do Laboratório de Cromatografia Líquida, do Instituto de Ciências Exatas e Naturais, da Universidade Federal do Pará (UFPA).

As análises foram realizadas no Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu[®] LC-10AD), binário, com detector de arranjo de diodo (modelo SPD-M20A), degaseificador de membrana (modelo DGU-14A), autoinjeter de amostra (SIL-20A), interface de comunicação (CBM-20A), conectado ao microcomputador com LCsolution como *software* de integração; coluna C₁₈5 μ m (Phenomenex[®], 250x4,60 mm), dotada de pré-coluna; detector por UV-vis com arranjo de diodos.

Uma solução na concentração de 5 mg/mL foi preparada com uso de 5 mg do extrato seco solubilizado em 1 mL de água:metanol (1:1, v/v). Tanto a solução do extrato seco, quanto a solução oral foram acidificadas com ácido fórmico a 0,1% (v/v). Em seguida, as duas amostras foram filtradas em filtro de seringa hidrofílico (0,45 μ m) e transferidas para o *vial*. A análise por CLAE procedeu com injeção automática de 20 μ L de amostra.

Os perfis cromatográficos do extrato e solução oral de *V. multispicata* foram obtidos com adaptação da metodologia de Snyder e colaboradores (1997), em modo de eluição gradiente, fase móvel constituída de solvente A (água) e B (metanol), com variação de 5-100% de B em 60 minutos, a uma taxa de 1,58% metanol/min.

3.6.2 Forma Farmacêutica Semissólida Creme à base de *V. multispicata*

3.6.2.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do creme à base de *V. multispicata*

Para a realização do estudo de compatibilidade, foram preparadas misturas binárias na proporção de 1:1 (p/p) dos excipientes e do extrato liofilizado de *V. multispicata*. A Tabela 5 mostra os excipientes finais utilizados no creme desenvolvido.

O teste de compatibilidade entre o extrato seco e excipientes seguiu todos os parâmetros já descritos anteriormente na metodologia da seção 3.5.

Tabela 5: Excipientes utilizados no desenvolvimento do creme à base de *V. multispicata* com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.

Forma farmacêutica	Excipientes	Função	%
Creme	Monoestearato de glicerila	Emulsificante	
	Álcool cetosteárico	Emulsificante	Proporção 9:1(p/p) ^A
	Lauril sulfato de sódio	Surfactante aniônico	0,50-2,50 ^B
	Butilhidroxitolueno	Antioxidante	0,0075-0,10 ^B
	Propilenoglicol	Umectante	≈ 15,00 ^B
	MF	Conservante	0,20 ^C
	Água destilada	Veículo	q.s.p.

Legenda: ^A: Aulton; Taylor, 2016; ^B: Handbook, 6ª ed. (Rowe; Sheskey; Quinn, 2009); ^C: Ipel - Itibanyl Produtos Especiais LTDA; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit[®]); q.s.p – quantidade suficiente para completar o volume.

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.2.2 Obtenção do creme à base de *V. multispicata*

A base do creme foi preparada pelo método de fusão e emulsificação (CZEPULA, 2006). Dessa forma, os excipientes da formulação foram divididos em fases A e B. A fase A da emulsão foi composta por: monoestearato de glicerila (Lote: PG90408), álcool cetosteárico (Maian[®], Lote: 1217122411), lauril sulfato de sódio (Dinâmica[®], Lote: 88467), propilenoglicol (Apsen Farmacêutica S.A., Lote: 2008E4445), álcool cetosteárico etoxilado (Química Anastácio[®], Lote: DM18120050), cloreto cetil trimetil amônio (AQIA[®], Lote: PJ50609) e hidroxitolueno butilado (BHT) (Cosmotec[®], Lote: 1909000054), devido ao caráter

hidrofóbico desses excipientes. Enquanto, a fase B foi composta pelos excipientes de caráter hidrofílico: água destilada e o conservante composto por metilisotiazolinona e fenoxietanol (MF) (Novamit[®] - Ipel[®], Lote: O47749).

As fases A e B foram preparadas separadamente e aquecidas até a temperatura de aproximadamente 70-75°C, em chapa aquecedora. Após o aquecimento, a água destilada foi, lentamente, vertida à fase A, sob agitação leve e constante, até completa formação da emulsão homogênea. Depois, foi deixado resfriar até temperatura ambiente e adicionado o conservante sob agitação. O ajuste do pH da formulação (4,6-5,8) foi realizado nessa etapa, utilizando trietanolamina ou ácido cítrico a 20%.

Uma avaliação qualitativa dos excipientes foi executada, obtendo-se os LBs I a IV (Tabela 5). A partir da obtenção das bases, foi realizada a incorporação do extrato seco tamisado (< 250 µm) (5% p/p do extrato seco em 95% p/p de base) à temperatura ambiente, por dois métodos distintos: incorporação direta do extrato seco e utilizando como agente de levigação o propilenoglicol (q.s.) (LIBÓRIO, 2016), realizando a incorporação com auxílio de um gral e pistilo. Após procedimento, a dispersão foi incorporada à base do creme utilizando também o gral e pistilo, até a uniformidade total da formulação (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Após 48hrs, foi realizada a avaliação das características organolépticas e estabilidade física das formulações obtidas (LBs I a IV). Diante dos resultados, optou-se pela incorporação do extrato aquoso de *V. multispicata* (10% p/p), às emulsões óleo/água (O/A) manipuladas, realizando-se a planificação quantitativa do excipiente monoestearato de glicerila (LBs V a VII) (Tabela 5). A incorporação do extrato foi realizada gradualmente, utilizando gral e pistilo, até a uniformidade total da formulação (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Após a incorporação do extrato aquoso (10% p/p em 90% p/p de base), homogeneizou-se e o ajuste do pH das formulações (4,6-5,8) (GUIMARÃES, 2018) foi novamente realizado, quando necessário, utilizando trietanolamina ou ácido cítrico a 20%. As formulações foram acondicionadas em recipientes de plástico, devidamente lacrados, deixados sob o abrigo da luz e umidade, sendo novamente avaliadas após 48h.

Todos os LBs obtidos (50g) estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6: Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento do creme à base de *V. multispicata*.

Excipientes	LB I	LB II	LB III	LB IV	LB V	LB VI	LB VII
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Extrato seco de <i>V. multispicata</i>	5,00	5,00	5,00	5,00	-	-	-
Extrato aquoso de <i>V. multispicata</i>	-	-	-	-	10,00	10,00	10,00
Monoestearato de glicerila	-	6,00	6,00	10,00	6,00	8,00	10,00
Álcool cetosteárfico	9,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Laurilsulfato de sódio	1,00	-	-	0,50	0,50	0,50	0,50
Álcool cetosteárfico etoxilado	-	1,50	-	-	-	-	-
Cloreto de Cetil Trimetil Amônio	-	-	1,50	-	-	-	-
Propilenoglicol	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Butilhidroxitolueno	0,05	0,050	0,05	0,050	0,05	0,05	0,05
MF	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Trietanolamina ou ácido cítrico	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Água destilada	q.s.p	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

Legenda: LB – Lotes de bancada; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit®); q.s.p – quantidade suficiente para completar o volume; q.s. – quantidade suficiente para o ajuste de pH.

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.2.3 Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis ao creme

No controle de qualidade da forma farmacêutica semissólida (creme à base de *V. multispicata* – LB V, LB VI e LB VII) foram realizadas as seguintes análises: características organolépticas do creme obtido (cor, aparência visual, aroma e análise sensorial da formulação final), determinação do pH (conforme metodologia descrita na subseção 3.3.2), avaliação da espalhabilidade e viscosidade.

As determinações da espalhabilidade foram realizadas a partir do método adaptado de Borghetti e Knost (2006). O molde circular de plástico foi adaptado para as dimensões requeridas (diâmetro = 20 cm; espessura = 0,3 cm; orifício central = 1,2 cm de diâmetro). O mesmo foi colocado sobre uma placa suporte de vidro (20 cm x 20 cm) que continha uma

folha de papel milimetrado em sua superfície. A amostra da análise foi colocada no orifício do molde circular e a superfície nivelada com espátula. Logo após, o molde foi retirado, de forma cuidadosa, e uma placa de vidro, de peso previamente definido, foi colocada sob a amostra. Após o intervalo de um minuto, foi realizada a medição do diâmetro em duas posições opostas, com o auxílio do papel milimetrado, régua e fonte luminosa. Ao fim de cada medição, uma nova placa de vidro, de peso conhecido, foi aplicada acima das demais, em intervalos de um minuto, sempre registrando a superfície abrangida pela amostra, repetindo-se o processo até o número máximo de 10 placas.

Com o auxílio do *software* Microsoft Excel[®], os dados foram analisados e construídos os gráficos de espalhabilidade. Os resultados foram expressos em espalhabilidade (E_i) da amostra em função do peso aplicado, à temperatura ambiente, de acordo com a equação:

$$E_i = \frac{d^2 \times \pi}{4}$$

Onde:

E_i = espalhabilidade da amostra para peso (mm^2);

d = diâmetro médio (mm).

O comportamento reológico dos LBs obtidos foi avaliado em viscosímetro rotacional (Rheology International[®], modelo RI:2:M), em parceria com a Professora Dra. Leila Bastos Leal (Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosmético - UFPE).

A viscosidade relativa foi determinada a partir de um gradiente de cisalhamento crescente e decrescente, com velocidade de rotação de 10 a 100 rpm (intervalo de 1 minuto, de 10 em 10 rpm), à temperatura ambiente, utilizando *spindle* ASTM 7.

Com o auxílio do *software* Microsoft Excel[®], os dados foram analisados e construídos os gráficos de viscosidade (Pa.s) versus taxa de cisalhamento ($1/s$), podendo identificar o comportamento reológico das formulações obtidas (GOEBEL, 2012).

3.6.3 Forma Farmacêutica Semissólida Gel à base de *V. multispicata*

3.6.3.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do gel à base de *V. multispicata*

Para a realização do estudo de compatibilidade, foram preparadas misturas binárias na proporção de 1:1 (p/p) dos excipientes e do extrato liofilizado de *V. multispicata*. A Tabela 7 mostra os excipientes finais utilizados no gel desenvolvido.

O teste de compatibilidade entre o extrato seco e excipientes seguiu todos os parâmetros já descritos anteriormente na metodologia da seção 3.5.

Tabela 7: Excipientes utilizados no desenvolvimento do gel à base de *V. multispicata* com suas respectivas finalidades e concentrações usuais (%) permitidas.

Forma farmacêutica	Excipientes	Função	%
Gel	Carbopol [®]	Geleificante	0,50-2,00 ^A
	Propilenoglicol	Umectante	~ 15,00 ^A
	MF	Conservante	0,20 ^C
	Água destilada	Veículo	q.s.p

Legenda: ^A: Handbook, 6^a ed. (Rowe; Sheskey; Quinn, 2009); ^B: Ipel - Itibanyl Produtos Especiais LTDA; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit[®]); q.s.p – quantidade suficiente para completar o volume.

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.3.2 Obtenção do gel à base de *V. multispicata*

A planificação qualitativa e quantitativa de excipientes no desenvolvimento do gel à base de *V. multispicata* foi realizada a partir da avaliação de formulações manipuladas com dois agentes geleificantes diferentes (carbômero - Carbopol[®] e a hidroxietilcelulose - Natrosol[®]), em diferentes concentrações (Tabela 7).

Para a manipulação dos LBs contendo Carbopol[®], foi primeiramente adicionado o propilenoglicol sob a água destilada, em agitação constante e rápida. De forma lenta, foi adicionado o agente geleificante (Carbopol[®]) pulverizado, a fim de não serem formados aglomerados de partículas, garantindo completa solvatação do polímero no solvente (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013). Ao final do procedimento, a base obtida foi deixada em repouso na geladeira por 24h, para hidratação e dispersão completa do polímero.

Após as 24h, foi adicionado o agente neutralizante (trietanolamina), a fim de possibilitar o espessamento do gel e viabilizar a estabilidade da formulação, levando em consideração também o pH do local de aplicação (4,6-5,8) (GUIMARÃES, 2018). Sendo o agente conservante adicionado ao fim desse procedimento, sob constante agitação.

Por sua vez, na manipulação dos LBs contendo Natrosol[®], o propilenoglicol foi adicionado à água destilada e o agente geleificante (Natrosol[®]) adicionado aos poucos, em agitação lenta e contínua. Prosseguindo-se com agitação até completa dispersão e formação do gel, sendo os períodos de agitação intercalados com períodos (5 min) de repouso. Ao final do procedimento, adicionou-se o agente conservante adicionado e o pH foi ajustado conforme local de aplicação (4,6-5,8).

A incorporação do extrato aquoso, na concentração de 10% (p/p), foi realizada com posterior ajuste do peso final da formulação utilizado as bases gel previamente obtidas (q.s.p. 100%), homogeneizou-se. O ajuste do pH (4,6-5,8) foi realizado, se necessário.

As formulações foram acondicionadas em recipientes de plástico devidamente lacrados, deixados sob o abrigo da luz e umidade, sendo posteriormente observadas as características organolépticas e estabilidade física de cada LB obtido (50g), descritos na Tabela 8.

Tabela 8: Lotes de Bancada (LBs) obtidos durante o desenvolvimento do gel à base de *V. multispicata*.

Excipientes	LB I	LB II	LB III	LB IV	LB V	LB VI
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
Extrato aquoso de <i>V. multispicata</i>	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Hidroxietilcelulose (Natrosol [®])	0,50	1,00	1,50	-	-	-
Carbômero 940 (Carbopol [®])	-	-	-	0,50	1,00	1,50
Propilenoglicol	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
MF	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Trietanolamina	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.	q.s.
Água destilada	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.	q.s.p.

Legenda: LB – Lote de bancada; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit[®]); q.s.p – quantidade suficiente para completar o volume; q.s. – quantidade suficiente para o ajuste de pH.

Fonte: Dados da pesquisa.

3.6.3.3 Controles de qualidade físico-químicos aplicáveis ao gel

No controle de qualidade do gel à base de *V. multispicata* (LB IV, LB V, LB VI) foram realizadas as mesmas análises descritas na seção 3.6.2.3, referente aos controles de qualidade gerais aplicados às formas farmacêuticas semissólidas.

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA: SOLUÇÃO ORAL

A avaliação da atividade farmacológica da solução oral (15 mg/mL), com 30% de sorbitol (LB II), foi realizada em parceria com o Prof. Dr. Enéas de Andrade Fontes Júnior, no Laboratório de Farmacologia da Inflamação e do Comportamento, Faculdade de Farmácia, da UFPA.

3.7.1 Animais de experimentação

Os animais utilizados como modelos de experimentação foram originários do Instituto Evandro Chagas (IEC – Belém/PA). Camundongos (*Mus musculus*) suíços machos (n= 24), com massa corpórea entre 25 e 30 g, foram utilizados para avaliação da nocicepção, enquanto que a avaliação da migração celular foi avaliada em ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar machos (n= 30), pesando entre 150 e 200 g.

Os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação (CEPAE-UFPA) sob o parecer nº 6303181219, sendo executados de acordo com o Guia de Cuidado e Uso de Animais Laboratoriais (HUBRECHT; KIRKWOOD, 2010).

Os animais foram mantidos no Biotério da Faculdade de Farmácia (UFPA), em condições padronizadas de temperatura ($22 \pm 1^\circ\text{C}$), exaustão e ciclo claro/escuro de 12h (claro de 6-18 h), com água e alimento *ad libitum*.

3.7.2 Drogas e tratamentos

Foi utilizado como indutor alérgico o ácido acético (0,6%, v/v), preparado em água destilada e administrado por via intraperitoneal. Como agente flogístico, o lipopolissacarídeo (LPS) foi utilizado. A indometacina (10mg/kg, por via oral), foi adotada como droga padrão.

Em todos os casos, o volume máximo administrado foi padronizado em 0,1 mL/10g de massa corporal, para camundongos, e 0,1 mL/100g de massa corporal, para ratos.

3.7.3 Avaliação da atividade antinociceptiva da solução oral à base de *V. multispicata*

O teste de contorções abdominais induzidas por ácido acético foi realizado de acordo com o modelo descrito por Koster e colaboradores (1959). A indução de contorções abdominais foi caracterizada pela contração e rotação do abdômen dos animais, apresentando extensão até uma ou até ambas as patas posteriores, através da administração intraperitoneal de ácido acético (0,6%; v/v; 0,1mL/10 g de peso).

Os camundongos (n = 6 por grupo) foram inicialmente tratados com solução salina (controle), extrato seco liofilizado de *V. multispicata* (150 mg/kg), Solução oral (150 mg/kg) ou Indometacina como droga padrão (10 mg/kg). Após 60 minutos, a solução de ácido acético foi administrada, por via intraperitoneal.

O número total de contorções foi registrado durante 20 min, iniciando a contagem de tempo apenas após 10 min da administração do ácido acético. Os dados foram expressos como percentual do número total de contorções apresentado pelo grupo controle.

3.7.4 Peritonite induzida por Lipopolissacarídeo (LPS)

Os ratos (n=6 por grupo) foram tratados, por meio de gavagem (a cada 24h, por 6 dias), com salina (branco e LPS), extrato seco liofilizado de *V. multispicata* (150 mg/kg), solução oral (15 mg/kg) ou Indometacina, como droga padrão (10 mg/kg) (adaptado de ZHANG et al., 2011; KAZAK, 2017). Trinta minutos após a última administração oral, a peritonite foi induzida administrando-se, por via intraperitoneal, o LPS (3,0 mg/kg). O grupo branco recebeu apenas salina por via intraperitoneal (ZHU et al., 2015; YAO et al., 2015).

Após 24 horas da administração de LPS, os ratos foram anestesiados com isoflurano, e, em seguida, eutanasiados. A cavidade peritoneal foi lavada com 10 mL de soro fisiológico (0,9%). Em seguida, foram coletadas amostras do lavado peritoneal e realizada a contagem global do número de leucócitos, em microscópio, utilizando-se Câmara de Neubauer. Para tanto, 20µL de cada amostra foram diluídas em 380 µL (proporção 1:20) de solução de Turk (ácido acético a 3% e azul de metileno), permanecendo em solução durante 20 min para a realização da leitura.

3.7.5 Análise estatística

Inicialmente, foi testada a normalidade dos dados, através do teste de Kolmogorov-Smirnov. A diferença entre os grupos foi testada por Análise de Variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Holm-Sidak (SigmaPlot® 12).

3.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS FORMAS FARMACÊUTICAS

O estudo prévio da Estabilidade Acelerada e Fotoestabilidade da solução oral, creme e gel (LB II; LB VI; LB V, respectivamente) foi iniciado de acordo com a RDC nº 318, de 6 de novembro de 2019 (BRASIL, 2019b). Foram avaliados os aspectos organolépticos, pH, densidade e perfil reológico (espalhabilidade e viscosidade), quando aplicáveis.

Para isso, LBs de 100 mL da solução oral foram manipulados e armazenados em frascos âmbar, devidamente lacrados. E para as formas farmacêuticas semissólidas (creme e gel) LBs de 80 g foram manipulados, armazenados em recipientes plásticos, devidamente lacrados e envoltos em papel alumínio.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 OBTENÇÃO E PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

Os 635g de droga vegetal de *V. multispicata*, advindos dos colaboradores da UFPA, corresponderam a 24,14% de rendimento do material vegetal após a secagem, e foram enviados em embalagem a vácuo nas devidas condições para uso.

Dentre as principais características organolépticas da droga vegetal, pode-se citar: coloração esverdeada, com aspecto de pó fino ou intermediário e odor característico da espécie vegetal (Figura 7).

Figura 7: Droga vegetal de *V. multispicata*



Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DA DROGA VEGETAL

4.2.1 Determinação da matéria estranha

A partir da média das pesagens realizadas, foi possível obter uma porcentagem de 1,32% m/m ($\pm 0,04$) referente à matéria estranha presente na droga vegetal de *V. multispicata*,

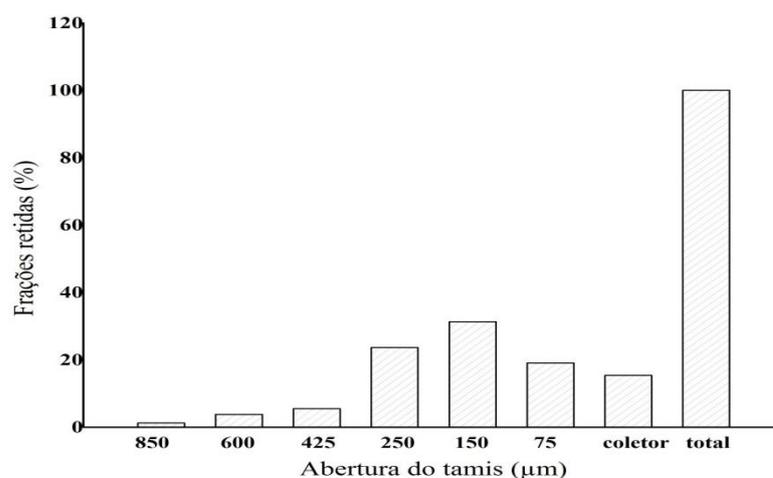
estando esse valor dentro dos padrões exigidos pela FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a), onde a porcentagem de elementos estranhos não deve ser maior que 2% m/m.

Dessa forma, pode-se concluir que a droga vegetal utilizada para o estudo foi avaliada e possui níveis aceitos quando se refere aos possíveis contaminantes (insetos, fungos, minerais, terra, partes de outras espécies vegetais, entre outros) que poderiam levar a resultados insatisfatórios e baixo rendimento durante a pesquisa (GALVÃO, 2015).

4.2.2 Determinação da distribuição granulométrica do pó

A partir desse experimento com a droga vegetal à base de *V. multispicata*, foi possível avaliar a distribuição do tamanho das partículas e o tamanho médio das partículas da matéria-prima vegetal utilizada. O resultado da porcentagem da droga vegetal retida em cada tamis está representado na Figura 8.

Figura 8: Histograma referente ao perfil granulométrico de *V. multispicata*.



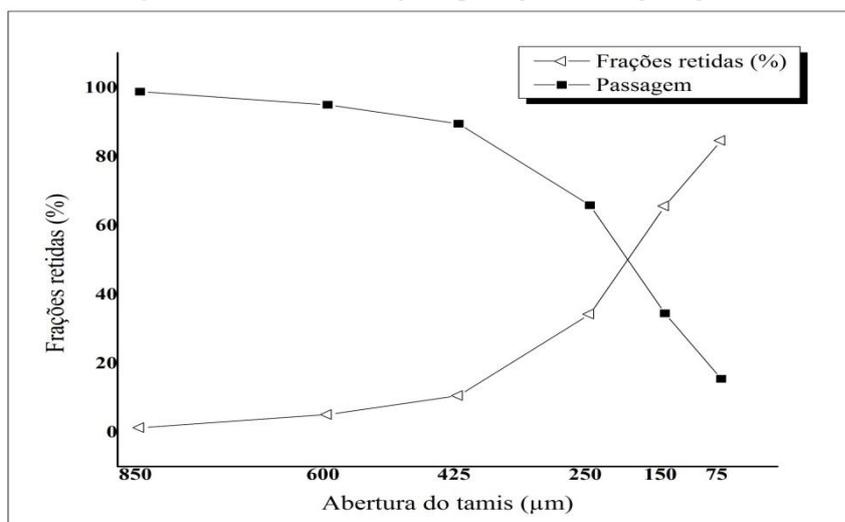
Fonte: Dados da pesquisa.

Sabendo da importância da classificação da droga vegetal quanto ao seu perfil granulométrico, no auxílio da conservação, tanto química quanto biológica da droga vegetal (LEMOS, 2015), foi observado que as partículas do pó de *V. multispicata* ficaram retidas, na sua grande maioria, entre os tamises de abertura 150 e 250 µm, totalizando 54,99% de retenção de partículas. Comparando os resultados com o que é preconizado pela FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a), conclui-se que a droga vegetal pode ser classificada como pó de característica semifina.

Segundo pesquisas realizadas por Lemos (2015), a porcentagem granulométrica encontrada de sua matéria-prima vegetal foi de 28,4% de pó retido na malha de 180 μm . Esse resultado contribui para a reafirmação da classificação da droga vegetal de *V. multispicata* como semifino.

Além disso, a partir do gráfico que apresenta a interseção das curvas de retenção e passagem da droga vegetal de *V. multispicata* (Figura 9), foi obtido o tamanho médio das partículas que é equivalente a 199,84 μm .

Figura 9: Curvas de retenção e passagem da droga vegetal



Fonte: Dados da pesquisa.

No entanto, sabe-se que a distribuição e tamanho das partículas não só interfere no controle da conservação da droga vegetal como também afeta diretamente a eficácia do método de extração (VASCONCELOS et al., 2005; FERREIRA et al., 2014; SILVA, 2019b). Devido ao fato de apresentarem partículas de menor tamanho, tornam a superfície de contato maior (SILVA, 2019b), mas também essas pequenas partículas tendem a formar uma camada compacta, dificultando mais a penetração do solvente (VASCONCELOS et al., 2005).

4.2.3 Determinação da perda por dessecação

Sendo a determinação da concentração de água, nas matérias-primas, um parâmetro relevante para a garantia e preservação da autenticidade da mesma (BRITTO, 2017) é possível, a partir desse dado, obter informações importantes tanto acerca das condições de armazenamento quanto informações que podem auxiliar na melhor conservação do produto,

com consequente manutenção da qualidade, já que é um parâmetro que influencia de forma direta na estabilidade do material (MACÊDO et al., 2020).

No caso do uso de matérias-primas à base de espécies vegetais, para fins farmacêuticos, essa análise tem por finalidade direta avaliar o teor de substâncias voláteis no vegetal e, indiretamente, a umidade residual (BRITTO, 2017; LIMA, 2019), sendo indicador de um processo de secagem eficaz ou não (MACÊDO et al., 2020).

O resultado obtido da perda por dessecação da droga vegetal à base de *V. multispicata* foi equivalente a 8,51% ($\pm 0,14$). Visto que a espécie vegetal em estudo não possui monografia ou dados na literatura que determinem os parâmetros de qualidade relacionados à droga vegetal e baseando-se no fato de que o limite máximo de umidade aceitável para drogas vegetais é de 14% (MACÊDO et al., 2020), pode-se inferir a estabilidade química e microbiológica da matéria-prima (SILVA, 2019b).

Estando dentro dos níveis exigidos e sabendo que um alto teor de água pode induzir: o aumento de reações químicas e enzimáticas, levando a processos que resultam em mudanças químicas e bioquímicas nas matrizes vegetais (PAULA, 2014; BRITTO, 2017), como a deterioração dos constituintes químicos (ALVES, 2014; SIMEI et al., 2014), além da contaminação microbiológica, pelo crescimento de fungos e bactérias (ALVES, 2014; SIMEI et al., 2014; BRITTO, 2017), obteve-se uma matéria-prima que ao ser utilizada em uma formulação, não interferirá na qualidade do produto final.

Além disso, em um estudo realizado por Pereira (2013), que utilizou partes aéreas de uma espécie vegetal também pertencente à família Boraginaceae, *Cordia verbenaceae*, o resultado da perda de água por dessecação obtido (8,4%) corrobora com o percentual apresentado no nosso estudo.

4.2.4 Determinação do teor de cinzas totais

O teor de cinzas totais encontrado foi equivalente a 10,39% ($\pm 0,11$), da droga vegetal de *V. multispicata*, em relação à droga seca ao ar. Conforme os limites estabelecidos nas monografias de diversas drogas vegetais descritas na FB, 6ª ed., volume II a porcentagem de cinzas totais aceita deve ser até 14% (BRASIL, 2019a; MACÊDO et al., 2020).

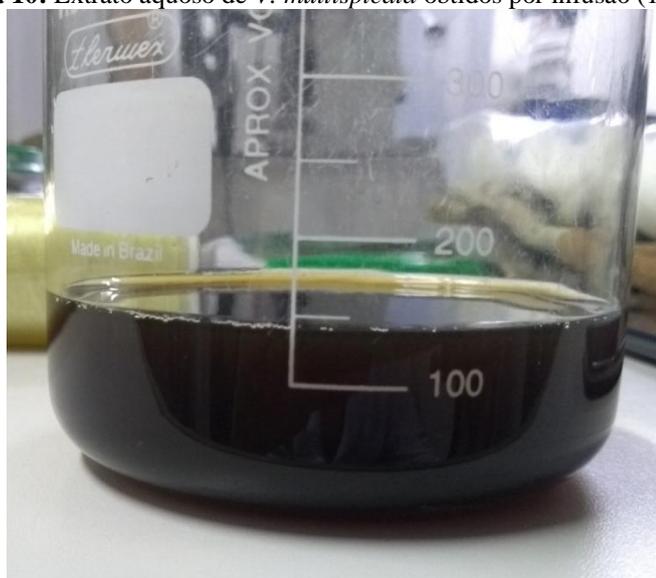
Dessa forma, sabendo-se que o termo “cinzas totais” refere-se tanto às cinzas fisiológicas quanto às não fisiológicas (BRASIL, 2019a), considera-se que a droga vegetal à base de *V. multispicata* apresenta quantidade viável de impurezas ou contaminantes que se

mantiveram mesmo com o processo de incineração, sendo essas advindas do próprio material vegetal ou provenientes do meio (MELLO et al.,2013; DANTAS, 2015).

4.3 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO

A solução extrativa à base de *V. multispicata*, obtida por infusão, possui coloração marrom escura e odor característico da espécie (Figura 10), além de apresentar rendimento de 58,00%, aproximadamente.

Figura 10: Extrato aquoso de *V. multispicata* obtidos por infusão (1:10 p/v)



Fonte:Dados da Pesquisa.

A partir das soluções extrativas preparadas foram realizadas as caracterizações que estão citadas a seguir.

4.3.1 Determinação de resíduo seco

A partir da quantificação do resíduo seco de uma solução extrativa, é possível obter/medir o potencial de extração do solvente (COSTA, 2012; SILVA, 2016; CASTRO, 2018). Sendo o resultado do resíduo seco do extrato aquoso de *V. multispicata* equivalente a porcentagem de 2,14% (m/m) (ou 2,14 g de sólidos solúveis para cada 100 mL de solução extrativa), observa-se um baixo teor de sólidos solúveis, fator este que pode influenciar no rendimento da operação de secagem escolhida (LIMA, 2019).

Contudo, Vasconcelos e colaboradores (2005) fizeram, em seu estudo, a análise de vários fatores que podem influenciar no teor do resíduo seco de soluções extrativas, dentre eles o método de extração e, principalmente, o solvente extrator e o tamanho de partículas da droga vegetal são os principais parâmetros que podem afetar o rendimento do processo extrativo, usando como critério de avaliação a quantidade de sólidos totais no extrato vegetal.

Como não existe uma especificação sobre o teor mínimo de sólidos solúveis para extratos à base de *V. multispicata*, o resultado obtido consta como um valor de caracterização, e pode auxiliar como indicativo tanto da quantidade de substâncias extraídas da planta, através da eliminação do solvente, quanto como indicativo da concentração do produto, podendo influenciar na eficácia das formulações fitoterápicas (SILVA, 2016).

4.3.2 Determinação do pH

O pH do extrato aquoso de *V. multispicata*, obtido pela média de três determinações (BRASIL, 2019a), foi equivalente a 7,13 ($\pm 0,026$), considerado de natureza neutra, como o esperado devido ao solvente extrator, sendo de grande importância para o desenvolvimento dos produtos finais propostos.

4.3.3 Determinação de densidade relativa

A média densidade relativa do extrato aquoso de *V. multispicata* obtida, utilizando a temperatura de 20°C, foi de 1,0058 ($\pm 0,04$) g/mL, apresentando-se assim, também como esperado, uma densidade aproximada à da água (0,99820 g/mL), na mesma temperatura. Dessa forma, o dado obtido a partir desse ensaio farmacopeico auxiliará no desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas (LIBÓRIO, 2016).

4.4 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO SECO

O extrato seco de *V. multispicata* apresentou-se visivelmente como um pó marrom, com características de pó fino com densidade baixa, contendo partículas brilhosas e sem característica higroscópica relevante (Figura 11).

Figura 11: Extrato seco aquoso à base de *V. multispicata*, obtido por liofilização.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.4.1 Determinação da umidade

O resultado encontrado para a determinação da umidade presente no extrato seco de *V. multispicata* foi de 97% (p/p) de resíduo seco e 3% (p/p) de umidade, estando assim dentro dos padrões exigidos pela FB, 6ª ed., onde determina que extratos secos são preparações sólidas que possuem uma perda por dessecação não superior a 5% (p/p) (BRASIL, 2019a).

Sendo esse um parâmetro que demonstra a eficácia do processo de secagem (FERNANDES, 2013), pode-se presumir que o processo de liofilização, sob as condições realizadas, foi suficiente e efetivo para a secagem da solução extrativa em questão, valendo ressaltar que, ao reduzir a porcentagem de água disponível, diminui-se a possibilidade da ocorrência de reações físicas e químicas, como também de crescimento microbiano (SANDINI et al., 2011; FERNANDES, 2013).

4.4.2 Teste de solubilidade do extrato seco liofilizado de *V. multispicata*

Sabendo que a biodisponibilidade de um IFA, veiculado em uma forma farmacêutica líquida, para administração oral, sofre influência em sua solubilidade de acordo com o sistema de solvente fornecido (MARTINS; LOPES; ANDRADE, 2013; SENGUPTA; PAI; TIPPAVAJHALA, 2017) e pH da solução (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013), é relevante avaliar esse parâmetro durante o estudo de pré-formulação.

Devido a essa questão, optou-se por realizar o estudo da solubilidade do extrato seco com alguns cossolventes (água, glicerina, propilenoglicol e sorbitol), que, geralmente, fazem parte dos excipientes utilizados na composição de soluções orais disponíveis no mercado.

Inicialmente, como mecanismo para o aumento da velocidade de dissolução do extrato seco, além dos processos de agitação vigorosa e sonicação, também foi realizada a redução do tamanho de partículas do mesmo (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013), visto que, a aplicação do calor não é propícia devidos aos compostos voláteis do extrato (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013). Sendo utilizada, portanto, nos testes de solubilidade e na manipulação dos novos LBs, partículas de tamanho inferior a 250 μm .

A partir do teste de solubilidade realizado, foi possível observar o diferente comportamento de solubilização do extrato seco de *V. multispicata* frente aos solventes e co-solventes selecionados, conforme Tabela 9.

Tabela 9: Teste de solubilidade do extrato seco de *V. multispicata*.

Volumes aproximados de solvente em mililitros por gramas de substância	Água	Glicerina	Propilenoglicol	Sorbitol
Menos de 1 parte	N	N	N	N
De 1 a 10 partes	N	N	N	N
De 10 a 30 partes	N	N	N	N
De 30 a 100 partes	S	N	N	S
De 100 a 1000 partes	-	N	N	-
De 1000 a 10000 partes	-	N	N	-
Mais de 10000 partes	-	N	N	-

Legenda: N – não houve solubilização total; S – houve solubilização total.

Fonte: Dados da pesquisa.

O extrato seco de *V. multispicata*, mesmo sendo testado com mais de 10000 partes de glicerina e de propilenoglicol, ainda apresentou partículas suspensas, ao fim do teste (praticamente insolúvel ou insolúvel), sendo descartados esses dois solventes para o uso na formulação da solução oral. Contudo, tanto a água, quanto o sorbitol apresentaram solubilização completa ao serem acrescidas 100 partes desses solventes, após os 15 minutos de sonicação, sendo classificado como moderadamente solúvel para esses dois solventes.

Diante da afirmativa de que vários são os fatores que afetam a solubilidade de um composto, têm-se os resultados obtidos, acima apresentados, justificados. Dentre esses fatores, pode-se citar: as propriedades físico-químicas do solvente escolhido (SENGUPTA; PAI; KRISHNA, 2017) e a matriz complexa de um extrato vegetal, onde a solubilidade desses compostos está intimamente ligada à natureza química dos diversos grupos funcionais presentes (OLIVEIRA, 2016).

Os metabólitos secundários presentes no extrato seco de *V. multispicata* constituem um complexo conjunto de compostos, que apresentam uma gama de grupos funcionais, podendo ser encontrados na forma livre ou na forma de glicosídeos (OLIVEIRA, 2016), como foi mostrado no estudo de Lopes e colaboradores, em 2019. Todos esses compostos fitoquímicos têm a sua solubilidade governada pela polaridade do solvente extrator, grau de polimerização da molécula e interação com outros constituintes presentes na matriz (OLIVEIRA, 2016).

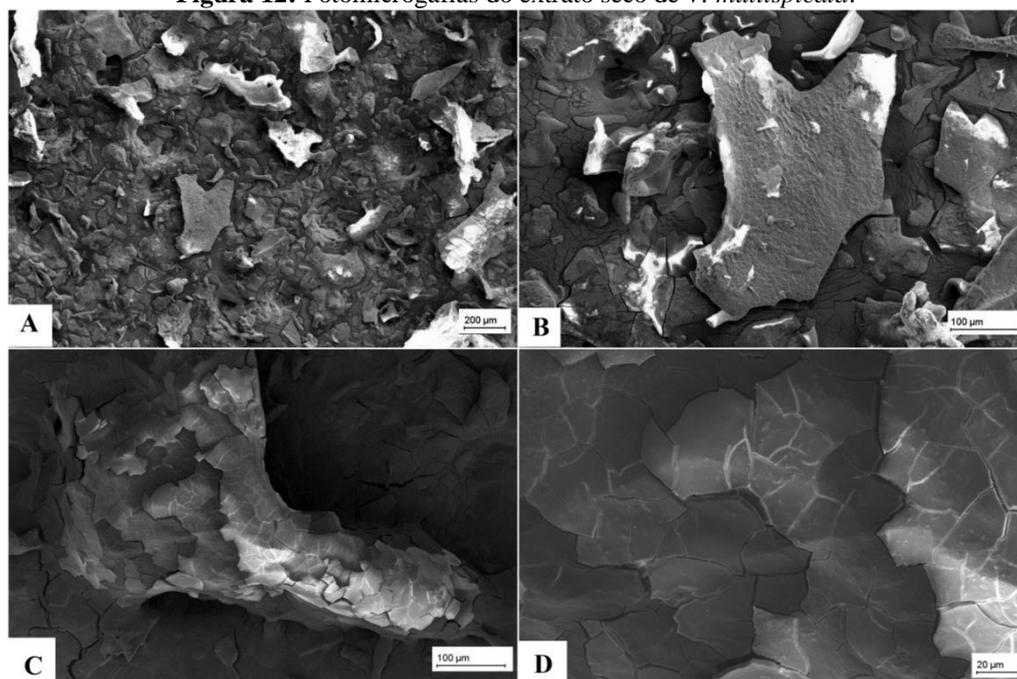
Frente à regra empírica de que "o semelhante dissolve o semelhante" e de que a solubilidade depende das forças de atração intermoleculares existentes (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; MARTINS; LOPES; ANDRADE, 2013), a característica polar da água, do sorbitol e da grande maioria dos metabólitos secundários extraídos das folhas de *V. multispicata* (dentre eles os compostos fenólicos), foram selecionados a água e o sorbitol, para a obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*.

4.4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Na Figura 12, estão representadas as fotomicrografias das partículas do extrato seco de *V. multispicata* nos aumentos de 120 x, 400 x e 1.23K x.

As partículas do extrato seco não possuem tendências a formar aglomerados, justificando o seu caráter de baixa propensão à captação de umidade. Além disso, de forma geral, apresentam rachaduras em toda a superfície, podendo ser indicativo de que possui mais de uma camada superficial. Contudo, não é possível afirmar apenas com os testes realizados.

A amostra possui morfologia indefinida e irregular, apresentando tamanhos e formatos variados, estando, em sua maioria, apresentados como partículas planas e algumas poucas apresentando formato arredondado. Essa irregularidade nas formas pode ser proveniente dos espaços anteriormente ocupados pelo gelo (ABDELWAHED; DEGOBERT; FESSI, 2016; SILVA, 2018), que deixaram de existir após o processo de secagem.

Figura 12: Fotomicrografias do extrato seco de *V. multispicata*.

Legenda: (A) 120 x; (B) 400 x; (C) 400 x; (D) 1.23K x.
 Fonte: Dados da pesquisa.

4.4.4 Prospecção fitoquímica

A triagem fitoquímica do extrato seco de *V. multispicata* permitiu verificar a presença de flavonoides, taninos hidrolisáveis, derivados antracênicos e derivados cinâmicos (Tabela 10), usando como critério de aceitação a detecção adequada dos marcadores na amostra (cor e posição da banda) (BRAZ et al., 2012).

Tabela 10: Análises cromatográficas, por CCD, do extrato seco de *V. multispicata*

Padrão químico	Deteção	Coloração	Rf padrão	Rf amostra
Rutina	UV 365	Azul fluorescente	0,12	0,10
Ácido gálico	Vis	Azul acinzentado	0,66	0,70
Senosídeo A	Vis	Marrom	0,60	0,62
Ácido cafeico	UV 365	Azul fluorescente	0,76	0,71

Legenda: UV 365 – luz ultravioleta (365 nm); Vis – luz visível; Rf – fator de retenção.

Fonte: Dados da pesquisa.

A existência de compostos fenólicos na amostra e as correlações desses grupos de metabólitos às ações anti-inflamatória e antioxidante de diversas espécies vegetais citadas na literatura (FURTADO et al., 2016; SANTOS; RODRIGUES, 2017; ZHONG et al., 2017; NASCIMENTO, 2019; NASCIMENTO; DUTRA, 2019; PUDZIUVELYTE et al., 2020), corroboram com o propósito do presente estudo de *V. multispicata*. Considerando-se ainda mais fundamentado, à medida que também têm-se relatos na literatura do potencial anti-inflamatório e antioxidante de espécies vegetais pertencentes à hierarquia taxonômica de *V. multispicata*.

Em um estudo realizado por Gharib e Godarzee (2016), foram analisadas oito espécies vegetais pertencentes à família Boraginaceae, coletadas no Iran, tendo como resultado positivo uma correlação direta entre a atividade antioxidante e o conteúdo total de compostos fenólicos e flavonóides dos extratos.

No estudo de Silva e colaboradores (2010), folhas de duas espécies da família Boraginaceae (*Cordia multispicata* e *Tournefortia bicolor*), foram coletadas, no estado de Alagoas (Brasil), e a análise mostrou a presença de compostos fenólicos potenciais sugestivos à atividade antioxidante observada nos extratos. Essa mesma correlação foi encontrada no estudo de Santi e colaboradores (2014), ao analisar a atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea*. Essa espécie também tem descrita sua atividade anti-inflamatória, quando utilizada de forma tópica em dores associadas a músculos e tendões, como exposto no Formulário de Fitoterápicos da FB (BRASIL, 2011).

Alguns outros estudos recentes, com espécies do gênero *Cordia*, também evidenciaram a presença de, principalmente, taninos, flavonoides e fenóis e a potencialidade anti-inflamatória e antioxidante de seus extratos, tendo como exemplos a *Cordia dichotoma* (HATWAREA et al., 2018) e *Cordia africana* (YISMAW et al., 2020).

No estudo de Lopes e colaboradores (2019), foram identificados vários metabólitos no extrato seco de *V. multispicata*, dentre eles, isolados nove constituintes, pertencentes a dois subgrupos de flavonoides (cinco flavonóis e 4 flavonas), tendo-se também como resultado uma sugestiva relação desses compostos com as propriedades biológicas estudadas: ação hepatoprotetora, antioxidante, anti-inflamatória e antinociceptiva. Essa última atividade possui uma possível correlação com o subgrupo das flavonas.

Quando se aborda sobre taninos, também não se pode excluir a ação antibacteriana, antitumoral e a capacidade de estímulo das células fagocitárias, que são relatadas referentes a esses compostos (AZEVEDO et al., 2014; ALVAREDA et al., 2015).

É válido salientar que, ao avaliar a presença de derivados antracênicos na amostra, além da banda característica do senosídeo A (Rf: 0,62), utilizado como padrão, outras duas bandas superiores (Rf:0,71 e Rf:0,88) também se mostraram presentes, podendo ser, possivelmente, correspondente a algum outro derivado antracênico presente na amostra.

Sabendo, portanto que os derivados antracênicos, também chamados de antraquinonas, são compostos que geralmente estão associados à atividade laxante, as plantas que possuem quinonas na sua composição, muito provavelmente, são utilizadas na terapêutica para essa finalidade (DARROZ et al., 2015), ação essa ainda não relatada na literatura referente a *V. multispicata*.

Contudo, alcaloides, cumarinas, taninos condensados e esteroides não foram detectados a partir da CCD realizada. Já o resultado de saponinas não foi conclusivo na amostra, possivelmente devido a um problema pré-analítico e, devido à impossibilidade da repetição do teste, foi realizada apenas uma análise qualitativa para detecção por meio do teste de espuma, onde pôde-se confirmar a presença de saponinas na espécie vegetal, pela formação de espuma estável e em abundância.

As saponinas são uns dos grupos de metabólitos secundários que estão relacionados com o mecanismo de fitoproteção, além das suas propriedades adstringentes e emulsificantes. Alguns estudos também relatam a possível atividade hipocolesterolemiantes desse metabólito, devido à capacidade das saponinas de formarem complexos com esteróis, principalmente com o colesterol (CASTEJON, 2011; ALVARENDA et al., 2015).

Compreendendo que a presença de metabólitos secundários, em uma amostra, varia de acordo com alguns aspectos, como as condições climáticas registradas no local de cultivo e período de coleta, verifica-se a prospecção fitoquímica sazonal como sendo alvo de alguns estudos presentes na literatura (FIGUEIREDO, 2014; MACÊDO et al., 2014; SANTOS, 2016; RIBEIRO; BONILLA; LUCENA, 2018; SILVA, 2019b).

Dessa forma, não se pode tomar como verdade absoluta que os metabólitos ausentes no extrato seco de *V. multispicata*, de acordo com a CCD realizada, não fazem realmente parte da sua composição química, mas que podem estar em uma quantidade mínima para que ocorra qualquer tipo de reação (CASSIANO, 2017).

Um caso em particular, refere-se aos terpenos presentes ou não na amostra em questão. De acordo com alguns estudos descritos na literatura, as folhas de *V. multispicata* possuem em sua composição, estruturas terpenoides, como citado por Kuroyanagi e colaboradores (2001), que, ao analisar as folhas de *V. multispicata* coletadas em Belém (Pará, Brasil), detectaram terpenos na fração de acetato de etila de um extrato metanólico processado

(que sofreu dissolução em água destilada e partição em acetato de etila e n-butanol), sendo este metabólito responsável por uma atividade antiandrogênica (KUROYANAGI et al., 2001; KUROYANAGI et al., 2003; SILVA et al., 2010; GRAÇAS et al., 2010).

Pela indisponibilidade de um padrão químico referente a terpenos, não foi possível realizar a triagem desse grupo de metabólito no extrato seco de *V. multispicata*. Entretanto, na placa de CCD, onde foi utilizado o sistema eluente e agente cromogênico específico para essa classe, foi possível visualizar uma banda avermelhada, de baixa intensidade de cor, com um $R_f = 0,43$. Sendo essa coloração um indicativo da presença de estruturas terpenoides livres (ARRUDA; SOARES, 2015; AMARAL, 2017), necessitando de testes mais específicos para melhores conclusões.

4.4.5 Doseamento de compostos fenólicos

A partir dos dados obtidos por meio da triagem fitoquímica da espécie, foi possível realizar o doseamento do extrato seco de *V. multispicata*, onde obteve-se um valor de compostos fenólicos totais equivalente a $242,3 \pm 2,86$ mgAG/g expressos em ácido gálico, afirmando a presença desses compostos nesse gênero vegetal. Como também já foi relatado na literatura em que alguns materiais vegetais do gênero *Cordia*, como é o caso de *Cordia verbenacea*, apresentavam fenóis como metabólitos secundários, principalmente sendo muito comum a presença, em grandes quantidades, de alguns flavonoides nas folhas das espécies vegetais (GILBERT; FAVORETO, 2013; ALVES; SANTOS; MATIAS, 2014).

Além das atividades antitumorais e antibacterianas associadas aos compostos fenólicos, principalmente os flavonoides e os taninos, têm-se relatos também da ação anti-inflamatória e antioxidante desses compostos. Os compostos fenólicos possuem a capacidade de sequestrar radicais livres impedindo assim a ação oxidante (OLIVEIRA; BASTOS, 2011; GUINDANI et al., 2014). Além disso, também podem atuar no mecanismo de diferentes enzimas, como, por exemplo, a COX que está relacionada com o processo anti-inflamatório, via de transdução de sinais, alguns receptores e outras atividades que são importantes no organismo (OLIVEIRA; BASTOS, 2011), corroborando assim, com a perspectiva do estudo.

4.5 ANÁLISE DO PERFIL TÉRMICO

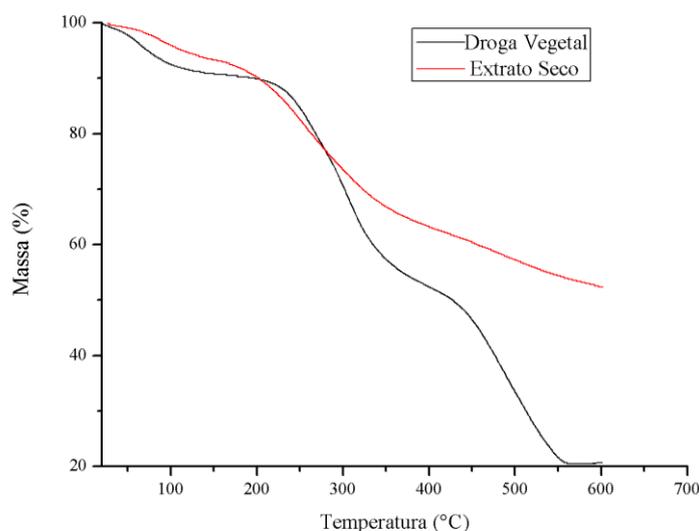
Fazendo parte ainda da série de caracterizações de toda a matéria-prima vegetal à base de *V. multispicata*, foi realizada a análise térmica tanto da droga vegetal quanto o extrato

seco obtido durante o estudo. As curvas termogravimétricas (TG) dessas duas amostras podem ser analisadas na Figura 13 e os dados relacionados aos eventos térmicos ocorridos, demonstrados na Tabela 11.

Na droga vegetal de *V. multispicata*, foram detectados três possíveis eventos térmicos (Tabela 11). No primeiro evento, foi observada uma perda de massa de 9,15% ($T_{\text{pico}} = 67,45^{\circ}\text{C}$), sugerindo uma perda de água ligada a substâncias voláteis (LEITE, 2017; PEIXOTO, 2018). Já no segundo evento, caracterizado como um evento exotérmico, pôde-se observar a maior perda de massa dessa amostra (37,31% na $T_{\text{pico}} = 289,31^{\circ}\text{C}$), podendo ser decorrente de uma decomposição de constituintes orgânicos presentes da amostra. Entre 441,03 e 540,90°C, ocorre o terceiro evento (exotérmico) equivalente a 32,81% de perda de massa, sendo justificado por uma possível queima de carboidratos e compostos carbonáceos presentes na droga vegetal, devido a compostos degradados anteriormente (SANTOS, 2015; PEIXOTO, 2018; SILVA, 2019b).

O extrato seco, ao ser analisado, também apresenta a ocorrência de três eventos térmicos (Tabela 11). O primeiro evento, assim como ocorrido na droga vegetal, refere-se à perda de umidade da amostra ($T_{\text{pico}} = 84,10^{\circ}\text{C}$), resultando em uma perda de 6,05%, demonstrando resquícios de umidade (LIMA, 2019), em uma menor porcentagem devido ao processo de secagem anterior. A decomposição térmica dos constituintes do extrato seco começou antecipadamente, quando comparada à droga vegetal, iniciando-se em torno de 216,82°C, com perda de 29,34% de massa, sendo caracterizado como um evento exotérmico, assim como o 3º evento térmico ($T_{\text{pico}} = 462,07^{\circ}\text{C}$ e 7,35% de perda de massa).

Sabendo-se que a termogravimetria é uma das técnicas que possibilita a análise da estabilidade das amostras (FERREIRA, 2020), pôde-se concluir que, em altas temperaturas, têm-se prejuízos na qualidade e estabilidade dos principais compostos presentes em *V. multispicata*, sendo observada uma degradação ainda mais significativa em temperaturas acima de 200°C.

Figura 13: Curvas TG da droga vegetal e extrato seco de *V. multispicata*

Legenda: Curvas TG - curvas termogravimétricas.

Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 11: Eventos térmicos ocorridos na droga vegetal e extrato seco de *V. multispicata*

Amostra	Eventos	Temperatura inicial	Temperatura final	Perda de massa (%)
		(°C)	(°C)	
Droga vegetal	1° Evento	43,34	96,01	9,15
	2° Evento	252,61	335,05	37,31
	3° Evento	441,03	540,90	32,81
Extrato seco	1° Evento	66,32	110,46	6,05
	2° Evento	216,82	313,71	29,34
	3° Evento	452,62	482,57	7,35

Fonte: Dados da pesquisa.

4.6 OBTENÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO DAS FORMAS FARMACÊUTICAS À BASE DE *Varronia multispicata*

4.6.1 Solução oral à base de *V. multispicata*

4.6.1.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes da solução oral e do extrato seco liofilizado para a obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*

Diante da definição dos excipientes a serem utilizados na obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*, foi realizado o estudo de compatibilidade de cada um desses excipientes com o extrato seco liofilizado.

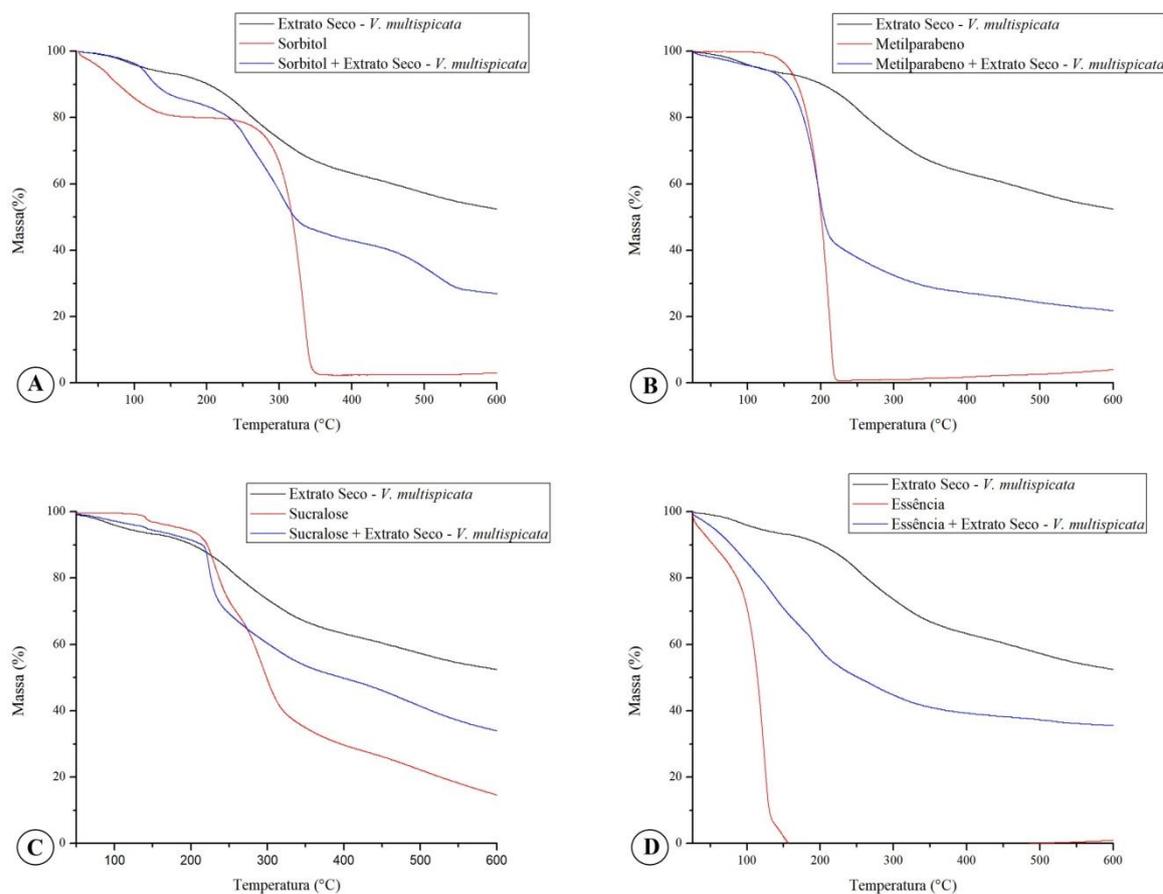
As curvas TG obtidas no estudo de compatibilidade estão apresentadas na Figura 14, enquanto que na Tabela 12 estão expostos os dados dos eventos do extrato seco, excipientes e misturas binárias entre o extrato seco e excipientes 1:1 (p/p), representando tanto as variações de temperatura quanto os percentuais de perda de massa ocorridos.

Analisando o perfil térmico do sorbitol, observou-se a ocorrência de dois eventos endotérmicos, um com início a partir de 59,23°C (14,52% perda de massa) e outro ocorrido entre 309,83-343,61°C, sendo responsável por 76,23% de perda. Já a mistura física do extrato seco com esse excipiente (Figura 14A) apresentou perda de massa em três etapas. O primeiro evento mostrou que não houve mudança significativa na faixa de temperatura, ocorrendo retardação do evento térmico e redução da perda de massa (13,41%, a $T_{\text{pico}} = 117,48^{\circ}\text{C}$) (Tabela 12). O segundo evento demonstrou o início da degradação da mistura binária (39,55% de perda de massa) e o terceiro evento, relacionou-se ao fim da degradação e combustão dos compostos (ARAÚJO, 2003; WESOLOWSKI; ROJEK, 2013), sendo a perda de massa equivalente a 13,47%.

A partir das curvas TG do metilparabeno (Figura 14B), foi observada 97,70% de perda de massa em um único evento endotérmico ($T_{\text{pico}} = 201,00^{\circ}\text{C}$), correspondente a volatilização da substância (SALVIO NETO, 2010; MENDONÇA et al., 2013). Contudo, quando avaliada a curva TG (Figura 14B) e os eventos ocorridos (Tabela 12) na mistura binária entre o extrato seco e o metilparabeno, observou-se que o evento endotérmico de início da volatilização desse excipiente é antecipado ($T_{\text{início}} = 174,26^{\circ}\text{C}$), sendo a T_{pico} aproximada ($188,77^{\circ}\text{C}$) e perda de massa inferior (41,12%), quando comparado ao perfil do metilparabeno isolado.

A sucralose possui ponto de fusão a 130°C, quando utilizada em sua forma cristalina anidra (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). O primeiro evento endotérmico ocorrido referiu-se à decomposição do composto (gerando duas moléculas de água e uma de ácido clorídrico), enquanto que o segundo ocorreu a partir de dois eventos exotérmicos consecutivos ($T_{\text{pico}} = 264,45^{\circ}\text{C}$) e correspondeu à oxidação da matéria orgânica (BANNACH et al., 2009), apresentando, assim, o maior percentual de perda de massa da sucralose (61,70%). Já quando observados os eventos térmicos da sucralose isolada e da mistura binária (Tabela 12), pôde-se verificar a ocorrência de comportamento térmico aproximado das duas amostras, tendo-se também o percentual de perda de massa reduzido para 1,14% e 24,20% referente ao 1° ($T_{\text{pico}} = 141,14^{\circ}\text{C}$) e 2° ($T_{\text{pico}} = 224,92^{\circ}\text{C}$) eventos endotérmicos, respectivamente.

Figura 14: Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de *V. multispicata*, excipientes utilizados na solução oral (sorbitol, metilparabeno, sucralose e essência de chocolate) e misturas binárias (1:1 p/p)



Fonte: Dados da pesquisa.

De acordo com os dados obtidos na curva TG da essência de chocolate isolada (Figura 14D), observou-se um único evento de perda de massa (77,19%), caracterizando-se como um evento exotérmico ($T_{\text{pico}} = 117,03^{\circ}\text{C}$). Diante da falta de informação quanto à composição total da mesma e de sua estabilidade térmica, pode-se determinar que, acima de 100°C , a essência utilizada na formulação da solução oral à base de *V. multispicata* começa a ser degradada. Na avaliação dos eventos térmicos da mistura com o extrato seco (Tabela 12), houve uma antecipação da temperatura correspondente ao início do evento exotérmico ($T_{\text{início}} = 93,53^{\circ}\text{C}$). Contudo, apresentou T_{pico} maior ($123,56^{\circ}\text{C}$) e perda de massa inferior (53,41%), quando comparado ao evento da essência de chocolate isoladamente.

Quando observa-se o extrato seco de *V. multispicata* em todas as curvas TG (Figura 14) e os eventos ocorridos no estudo de compatibilidade (Tabela 12), podemos perceber que nenhum evento térmico ocorreu em temperatura inferior à degradação do extrato seco isolado (LIMA, 2019), ou seja, não houve antecipação de perda de massa significativa.

Diante desses resultados, é sugestiva a compatibilidade entre o sorbitol, metilparabeno, sucralose e essência, utilizados na solução oral desenvolvida, como o extrato seco liofilizado de *V. multispicata*. Entretanto, para esse estudo de compatibilidade, análises adicionais devem ser realizadas, por métodos não térmicos (VERAS et al., 2019), por exemplo, a fim de avaliar de forma mais efetiva os resultados inconclusivos ou irreais (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Tabela 12: Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade da solução oral, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1 p/p)

Amostra	Eventos	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Perda de massa (%)
Extrato seco	1° Evento	66,32	110,46	6,05
	2° Evento	216,82	313,71	29,34
	3° Evento	452,62	482,57	7,35
Sorbitol	1° Evento	59,23	98,95	14,52
	2° Evento	309,83	343,61	76,23
Extrato seco:Sorbitol	1° Evento	101,22	139,92	13,41
	2° Evento*	243,86	324,77	39,55
	3° Evento	472,76	537,80	13,47
Metilparabeno	1° Evento	204,89	218,52	97,70
Extrato seco : Metilparabeno	1° Evento	174,26	208,18	53,41
Sucralose	1° Evento	137,63	145,35	3,38
	2° Evento*	218,46	291,52	61,70
Extrato seco:Sucralose	1° Evento	140,18	145,16	1,14
	2° Evento*	219,15	231,02	24,20
Essência de chocolate	1° Evento	109,31	131,50	77,19
Extrato seco:Essência	1° Evento	93,53	174,56	41,12

Legenda: * - dois eventos de perda de massa consecutivos.

Fonte: Dados da pesquisa.

4.6.1.2 Obtenção da solução oral à base do extrato seco de *V. multispicata*

Diante da formação de precipitado da amostra, quando testada frente a diferentes volumes de glicerina e propilenoglicol (seção 4.4.2), teve-se a definição de uso do sorbitol e água destilada, como principais veículos para obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*.

A fim de observar o comportamento e as características físico-químicas da forma farmacêutica líquida manipulada, foi utilizada uma mistura dos solventes escolhidos e realizada uma variação quantitativa da concentração de sorbitol (25, 30 e 35%), sendo obtidos os LB I, LB II e LB III, respectivamente.

A escolha minuciosa dos excipientes de uma nova formulação oral é um fator muito importante, pois além de contribuírem para a melhora das características de solubilidade, estabilidade e dissolução do IFA; afetam na adesão do novo medicamento, independentemente do público-alvo que é destinado. Os indivíduos possuem peculiaridades fisiológicas (número de papilas gustativas, alterações sensoriais ou capacidade de deglutição, por exemplo), sendo esses fatores ainda mais expressos em idosos e crianças (MONTERO-PADILLA; VELAGA; MORALES, 2016; NAKAMA et al., 2019).

A adequação da formulação a padrões aceitáveis implica no uso de excipientes corretos e em concentrações adequadas (Tabela 4), pois, embora não exerçam um efeito terapêutico, podem levar a reações não desejáveis (NAKAMA et al., 2019). Dessa forma, vários são os fatores que interferem diretamente na aceitabilidade de uma formulação, principalmente quando se fala da aparência visual, olfativa e da palatabilidade (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; VALLE, 2017), fatores ainda mais críticos no desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas, a partir de compostos naturais.

Pensando nisso, na solução oral desenvolvida, foi utilizada a técnica de mascaramento funcional, sendo essa uma das ferramentas de mascaramento de sabor citado por Walsh e colaboradores (2014) (VALLE, 2017) e que melhor se adequava ao desenvolvimento do produto. O mecanismo de combinação de dois ou mais componentes (MONTERO-PADILLA; VELAGA; MORALES, 2016) foi aplicado, escolhendo-se um flavorizante (essência de chocolate) e de dois edulcorantes (sorbitol e sucralose), como forma de suprimir o sabor levemente amargo e adstringente, característico do extrato de *V. multispicata*.

Diante da gama de flavorizantes para uso farmacêutico, a sua escolha pode basear-se no sabor do IFA e na faixa etária em que o medicamento é indicado (NAKAMA et al., 2019). Além disso, na solução oral desenvolvida, a seleção da essência de chocolate foi realizada

para que esse pudesse modificar o aroma peculiar das folhas da espécie vegetal, e também com o intuito da compatibilidade entre a coloração da formulação e do flavorizante, sendo esses aspectos atendidos com o uso da essência de chocolate a 0,1% (p/v).

O sorbitol, por sua vez, foi selecionado por ser amplamente utilizado como excipiente farmacêutico para diferentes vias de administração (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), em especial, sendo utilizado nas soluções orais como substituto da sacarose e como estabilizador de drogas (FERREIRA NETO et al., 2016; DASH; SRINIVAS; BABU, 2019). Possui baixo valor calórico e baixo índice glicêmico (cerca de 50% em relação a sacarose), sem relatos de possíveis efeitos cancerígenos e, assim como a sucralose, apresenta baixo potencial cariogênico e formador de placas (EFSA, 2011; DASH; SRINIVAS; BABU, 2019; NAKAMA et al., 2019). Contudo, como muitos edulcorantes, em quantidades elevadas, o sorbitol pode ser responsável por reações no trato gastrointestinal (FERREIRA NETO et al., 2016; DASH; SRINIVAS; BABU, 2019), sendo esse um dos fatores para condução da planificação quantitativa desse excipiente, de forma que a concentração de uso permanecesse dentro da faixa de segurança em cada dose da solução oral.

Também como alternativa ao uso da sacarose, optou-se pelo uso da sucralose, por sua potência adoçante (Quadro 3), pelo não fornecimento de calorias e pelo fato de não afetar os níveis de glicose no sangue (GROTZ et al., 2017; CAVAGNARI, 2019). Além disso, no estudo de Prashant e colaboradores (2012), a sucralose apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* significativa, inibindo *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, bactéria Gram-negativa, associada com a periodontite agressiva localizada. A sucralose também apresenta estabilidade, elevada solubilidade em água e seu uso não está atrelado ao desenvolvimento de câncer, lesões neurológicas e nem de alterações genéticas (OLIVEIRA et al., 2019a).

No processo de desenvolvimento e obtenção da solução oral à base de *V. multispicata*, ressalta-se ainda o alinhamento de dois objetivos: atingir um aroma e sabor agradável, mas que, ao mesmo tempo, esses não se tornassem fatores de risco de intoxicação, por despertar curiosidade e apreciação ao sabor (NAKAMA et al., 2019), esquecendo da finalidade medicamentosa do mesmo.

A escolha de um agente conservante também é um fator importante e pode ser influenciado pelo pH da forma farmacêutica desenvolvida. Levando-se em consideração que uma medicação por via oral deve apresentar pH neutro (AULTON; TAYLOR, 2016), a escolha do ácido benzóico como conservante não seria adequado, visto que esse composto tem atividade eficaz em meios com características ácidas (pH entre 2,5-4,5) (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Portanto, no desenvolvimento da solução oral à base de *V. multispicata*, optou-se pelo uso de um parabeno, mesmo diante dos relatos de efeitos adversos relacionados a esse grupo de conservantes (BALBANI; STELZER; MONTOVANI, 2006; ARAUJO; BORIN, 2012; AREIAS; SOUSA; PAULINO, 2014; XAVIER E CASTRO et al., 2018), o metilparabeno é amplamente utilizado em formulações farmacêuticas orais já comercializadas (BALBANI; STELZER; MONTOVANI, 2006), apresentando, por essa via, baixa toxicidade comprovada (GONÇALVES, 2016).

Diante de tudo isso, deve-se considerar, no desenvolvimento de uma forma farmacêutica líquida, a relação direta entre a palatabilidade e aceitação da formulação/tratamento, sendo esses os aspectos norteadores e relevantes em todas as etapas de desenvolvimento. Valle (2017) mostrou, em seu estudo, que o número de publicações relacionadas a esse tema aumentou ao longo dos anos, sendo essa uma tendência por parte da indústria farmacêutica.

Nesse estudo, também foi mostrado, através de um levantamento da literatura, que 44% dos artigos avaliados utilizavam o “Painel Sensorial Humano” para avaliação do sabor e a eficácia do mascaramento de sabor em formulações, sendo os escores e escalas as formas mais utilizadas para avaliação (VALLE, 2017). Dessa forma, vemos essa análise como uma evidência importante para o desenvolvimento desse novo produto.

4.6.1.3 Controles de qualidade físico-químicos da solução oral

Os controles de qualidade exigidos para as formas farmacêuticas líquidas foram realizados nos LB I, LB II e LB III, e estão descritos na Tabela 13.

É possível observar que tanto o pH quanto a densidade dos três LBs analisados não variaram muito do que foi determinado na caracterização do extrato aquoso de *V. multispicata*, adequando-se à finalidade pretendida. As leves variações desses parâmetros podem ser justificadas pela adição dos excipientes à formulação, dentre eles o sorbitol (25, 30 e 35%), que apresenta pH entre 3,5-7,0 e densidade equivalente a 1,507 g/mL (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

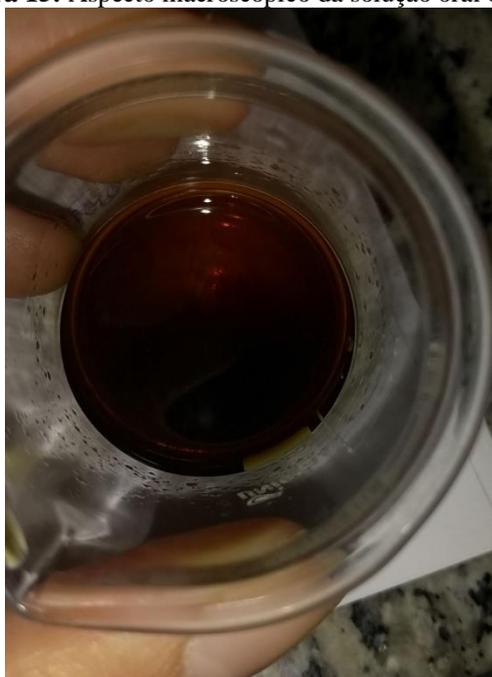
Diante da preocupação, já citada anteriormente, com a aparência e aceitabilidade de uma nova formulação, a solução oral à base de *V. multispicata*, em todos os LBs obtidos (LB I, LB II e LB III) apresentou-se livre de precipitações e turvações, demonstrando total solubilização do extrato e apresentando-se, dessa forma, adequado ao parâmetro visual requerido.

Tabela 13: Controle de qualidade físico-químico da solução oral à base do extrato seco de *V. multispicata*

AMOSTRA	pH	DENSIDADE	CARACTERÍSTICAS
		(g/mL)	ORGANOLÉPTICAS
LB I	6,64	1,00 ± 0,09	Cor: marrom escuro
LB II	6,58	1,00 ± 0,12	Aparência: límpida
LB III	6,70	1,00 ± 0,13	Aroma: essência de chocolate Sabor: inicialmente adocicado, mas com sabor residual adstringente (Figura 15).

Legenda: LB - Lotes de Bancada

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 15: Aspecto macroscópico da solução oral obtida.

Fonte: Dados da pesquisa.

É importante salientar que, com apenas os parâmetros da solução oral avaliados, até então, não foi possível definir a “formulação ideal” diante dos três LBs desenvolvidos, tendo sido escolhido, para as próximas análises, o LB II (sorbitol 30%), por ter concentração intermediária do solvente e estar dentro dos padrões desejados.

Para auxílio na escolha da formulação final da solução oral, torna-se sugestivo utilizar o “Painel Sensorial Humano”, como uma técnica *in vivo* para análise sensorial, visto que já foi avaliada a toxicidade do extrato dessa espécie e a manipulação da solução é realizada

conforme todos os protocolos exigidos. Dessa forma, sugere-se um modelo de painel elaborado para a avaliação da solução oral à base de *V. multispicata* (Apêndice A), que deverá ser submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, do Centro de Ciências da Saúde, da UFPE.

4.6.1.4 *Fingerprint* da solução oral por CLAE

O sistema água-metanol-ácido fórmico 0,1% (v/v) apresentou boa capacidade de eluição, resolução e separação da maioria dos componentes do extrato e solução oral (Figura 16), estando à qualidade da resolução associada ao efeito acentuado da temperatura da coluna estabelecida em 50 °C e o uso de amostra e fase móvel acidificada.

Diante da simetria observada entre os picos obtidos a partir do *fingerprint* do extrato seco aquoso e da solução oral a base de *V. multispicata* (Figura 16), é possível antever que a formulação líquida oral, em sua totalidade, manteve a presença dos mesmos constituintes do extrato seco e não interferiu negativamente na composição química do extrato seco aquoso, após incorporação.

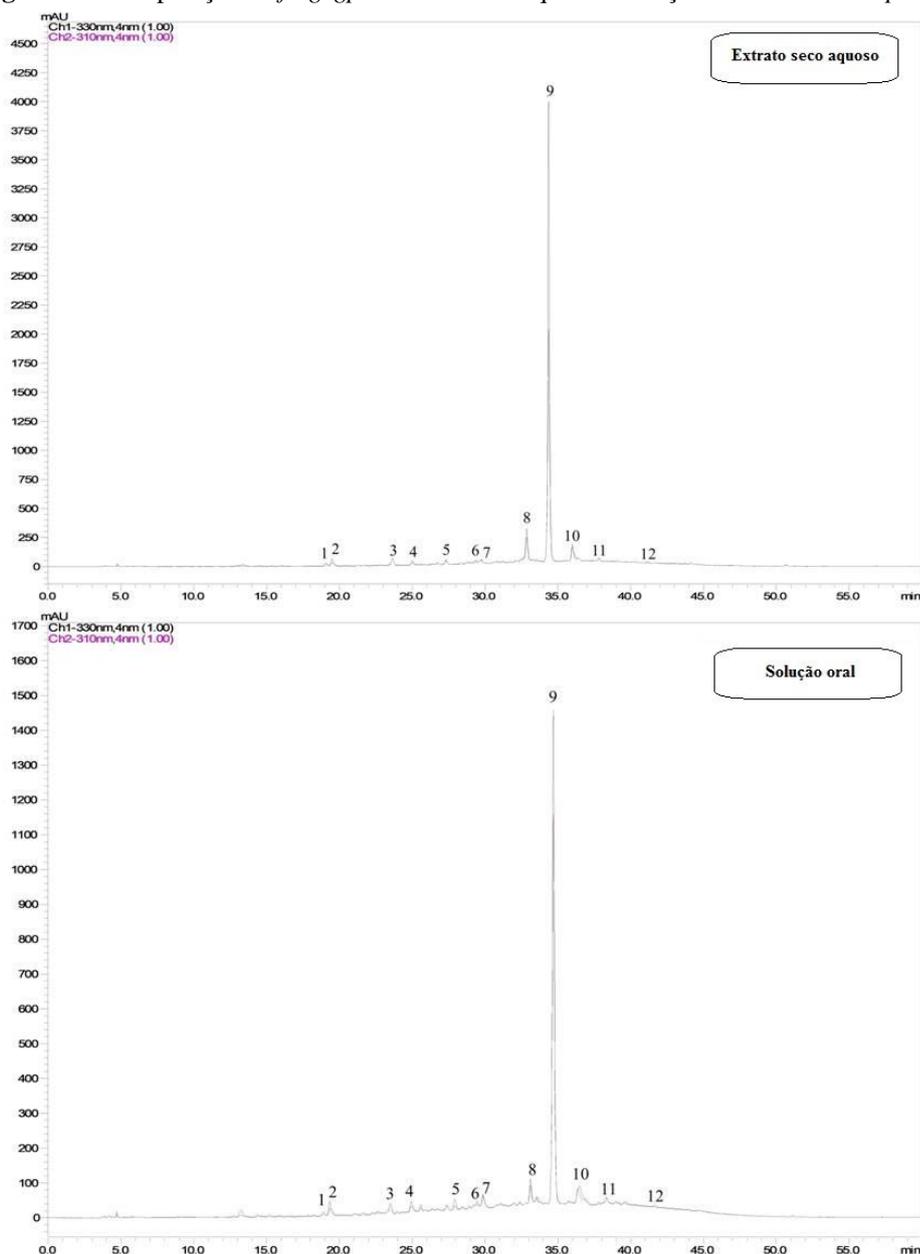
Dentre os picos observados, destaca-se o pico 9 com excelente equivalência e considerado o composto majoritário no cromatograma. Contudo, até o momento, não é possível afirmar que esse composto é o principal responsável pela atividade anti-inflamatória de *V. multispicata*, pelo fato do mesmo ainda não estar isolado, identificado e com sua ação comprovada.

Além disso, também não se pode excluir a possibilidade de ações sinérgicas que potencializem o perfil bioativo de *V. multispicata*, ou ainda, que modifiquem estruturas de um ou mais compostos, de modo que surjam artefatos contribuindo com potenciais biológicos mais elevados.

Contudo, o *fingerprint* realizado se mostrou como um fator a mais no auxílio da comprovação da qualidade do produto obtido, já que a avaliação dos compostos fitoquímicos e a padronização química dos extratos reflete ativamente na qualidade e reprodutibilidade dos efeitos dos mesmos, quando incorporados a formulações finais, por exemplo (TOLEDO et al., 2003; LEITE, 2009; GANGWAR et al., 2019).

Sabendo-se, portanto, que a qualidade está relacionada a diversos fatores e a várias etapas até a obtenção final do fitoterápico, essa não apresenta-se como sinônimo de eficácia, mas sim como um fator motivador para investigação da mesma (SILVA; RIBEIRO; RIBEIRO, 2017).

Figura 16: Comparação do *fingerprint* do extrato aquoso e solução oral de *V. multispicata*.



Fonte: Dados da pesquisa.

4.6.2 Creme à base de *V. multispicata*

4.6.2.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do creme à base de *V. multispicata*

As curvas TG obtidas no estudo de compatibilidade do extrato seco, excipientes e misturas binárias entre o extrato seco e excipiente, na proporção 1:1 (p/p) utilizados na obtenção do creme, estão apresentadas na Figura 17, e todos os eventos térmicos, descritos na

Tabela 14, sendo expostas tanto as variações de temperatura quanto os percentuais de perda de massa ocorridos.

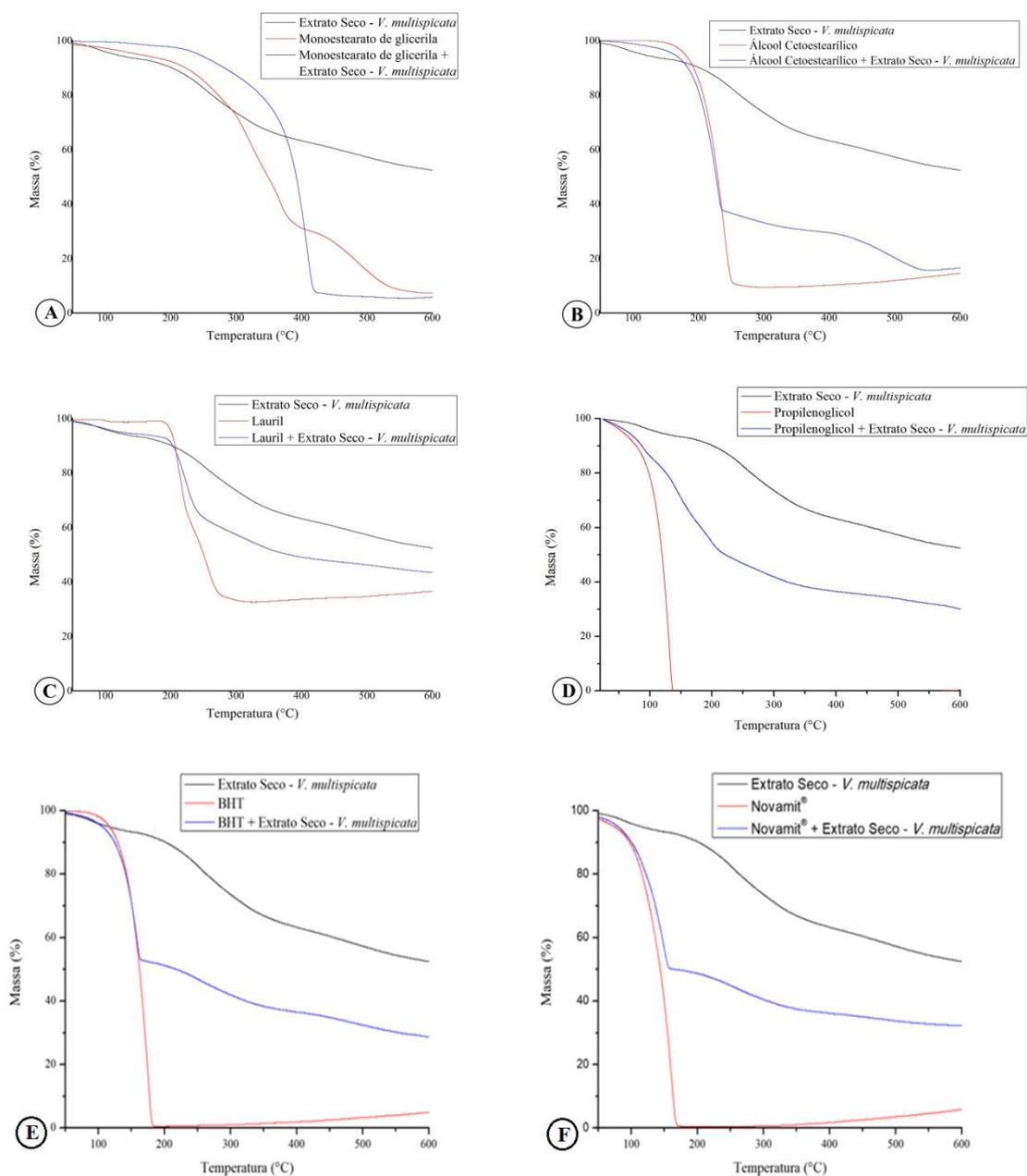
A Figura 17A demonstra a ocorrência de uma alteração no padrão das curvas TG da mistura binária (extrato seco:monoestearato de glicerila), quando se compara com a curva TG desse excipiente isolado, onde a perda de massa ocorreu em três etapas. O primeiro evento caracterizou-se como um evento endotérmico, com baixa perda de massa (1,57% e $T_{\text{pico}}=39,54^{\circ}\text{C}$). O segundo referiu-se à decomposição do monoestearato de glicerila (COSTA, 2005), e ocorreu a partir de três eventos exotérmicos de perda de massa consecutivos, totalizando em 63,29%. E o terceiro evento, também caracterizado como um evento exotérmico, ocorreu de forma lenta (de $444,25^{\circ}\text{C}$ a $524,28^{\circ}\text{C}$), resultando em 22,23% de perda de massa, possivelmente ainda decorrente da decomposição do composto.

As curvas TG da mistura binária entre o extrato seco e o monoestearato de glicerila mostraram um aumento da temperatura em que o processo de degradação do excipiente se iniciou em $T_{\text{inicial}}=384,90^{\circ}\text{C}$, equivalente a 76,47% de perda de massa (Tabela 14), ocorrido em um único evento endotérmico. Sendo esse fator um possível indicador de proteção na estabilidade térmica das amostras, ocorrido após associação (ASSUNÇÃO, 2017) do extrato seco com o monoestearato.

Na Figura 17B e Tabela 14 foi possível avaliar que o álcool cetosteárfílico apresentou um único evento endotérmico, com ponto médio em $226,56^{\circ}\text{C}$ e com perda de massa equivalente a 90,65%, sendo esse um resultado discrepante com o descrito no *Handbook de Excipientes*, 6ª ed. (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), que detalha a sua decomposição entre $300-360^{\circ}\text{C}$, aproximadamente. Entretanto, o resultado obtido corroborou com os dados na literatura que relatam a decomposição térmica desse composto ocorrida entre 130 e 326°C (MENDONÇA et al., 2013), onde pode-se justificar que a pureza do material de análise (ASSUNÇÃO, 2017), pode inferir diretamente na divergência de valores.

Quando avaliada a mistura binária entre o extrato seco e o álcool cetosteárfílico, são visualizadas duas etapas de decomposição (Figura 17B). Percebeu-se uma antecipação da temperatura do primeiro e principal evento térmico, semelhante ao perfil de decomposição do excipiente isolado ($T_{\text{pico}}=214,51^{\circ}\text{C}$), mas apresentando uma redução na porcentagem de perda de massa (60,89%). Esse resultado foi semelhante ao obtido no estudo de Mendonça e colaboradores (2013), quando analisada a compatibilidade do álcool cetosteárfílico com ácido retinoico, apresentando 60% de perda de massa, entre $155-268^{\circ}\text{C}$. O segundo evento térmico ($T_{\text{pico}}=481,13^{\circ}\text{C}$ e 14,12% de perda), caracterizado como um evento exotérmico, pode estar associado à decomposição dos demais compostos ainda presentes na mistura binária.

Figura 17: Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de *V. multispicata*, excipientes utilizados no creme (monoestearato de glicerila, álcool cetoestearílico, lauril sulfato de sódio, propilenoglicol, BHT, MF – Novamit®) e misturas binárias (1:1 p/p).



Fonte: Dados da pesquisa.

O perfil térmico do laurilsulfato de sódio (Figura 17C) apresentou uma perda de massa (65,99%, a $T_{\text{pico}} = 222,14^{\circ}\text{C}$) (Tabela 14), a partir de três eventos endotérmicos consecutivos. Todavia, quando avaliada a mistura binária com o extrato seco de *V. multispicata*, foi possível observar um evento inicial ($T_{\text{pico}} = 86,30^{\circ}\text{C}$), com baixa perda de massa (4,75%), referente à

desidratação dos compostos (ASSUNÇÃO, 2017) e um segundo evento, sendo esse o principal evento, endotérmico, que apresentou 43,50% de perda de massa, e ocorreu em temperatura aproximada (204,92–248,76°C) à decomposição do excipiente isolado (ASSUNÇÃO, 2017).

O comportamento termogravimétrico do propilenoglicol isolado e da mistura binária exibiu apenas uma única etapa de decomposição (Figura 17D e Tabela 14). A degradação do propilenoglicol teve início à temperatura de 113,71°C, com perda de massa total, enquanto que a mistura binária entre o extrato seco e o propilenoglicol, apresentou perda de massa inferior (54,74%), sendo significativamente adiantada em relação ao excipiente isolado, mas com $T_{\text{pico}} = 136,65^\circ\text{C}$. Esses dois fatores ocorridos (apenas um único evento endotérmico e a redução da perda de massa da mistura binária) também foram relatados no estudo de Costa (2010).

O antioxidante, BHT, de forma isolada apresentou um único evento endotérmico de decomposição, com 99,25% de perda de massa ($T_{\text{pico}} = 162,47^\circ\text{C}$) (MENDONÇA, 2014). Contudo, quando associado ao extrato seco, essa decomposição passou a ser apresentada por dois eventos: um endotérmico ($T_{\text{pico}} = 145,51^\circ\text{C}$), referente à degradação do BHT, mas com redução na perda de massa (47,21%), e um evento exotérmico, com 12,63% de perda gradual e com início em 222,14°C.

Na avaliação térmica do conservante utilizado no desenvolvimento do creme à base de *V. multispicata*, pôde-se avaliar que o MF é termicamente estável até aproximadamente 100°C, com margem de segurança. Na curva TG do conservante avaliado isoladamente (Tabela 14 e Figura 17F), 93,98% de perda de massa ocorreram na faixa de temperatura de 133,86°C a 162,64°C. Contudo, na mistura binária, esse evento endotérmico de decomposição foi antecipado ($T_{\text{pico}} = 132,40^\circ\text{C}$), mas com redução na perda de massa (47,76%), e um segundo evento térmico ocorrido de forma gradual e com perda de massa equivalente a 13,20%.

Ao avaliar cada curva TG das misturas binárias e dando enfoque à comparação apenas com o perfil do extrato seco de *V. multispicata* (Figura 17, A – F), observou-se que a mistura binária desse composto com o monoestearato de glicerila (Figura 17A), apresentou modificação no perfil térmico, retardando também, os eventos de degradação do extrato vegetal, sendo sugestiva a ocorrência de uma interferência positiva na estabilidade térmica (ASSUNÇÃO, 2017), como já citado.

Tabela 14: Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade do creme, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1 p/p)

Amostra	Eventos	Temperatura		Perda de massa (%)
		inicial (°C)	final (°C)	
Extrato seco	1° Evento	66,32	110,46	6,05
	2° Evento	216,82	313,71	29,34
	3° Evento	452,62	482,57	7,35
Monoestearato de glicerila	1° Evento	21,44	54,51	1,57
	2° Evento*	291,86	380,02	63,29
	3° Evento	444,25	524,28	22,23
Extrato seco : Monoestearato de glicerila	1° Evento	384,90	417,35	76,47
Álcool cetoestearílico	1° Evento	206,67	248,33	90,65
Extrato seco: Álcool cetoestearílico	1° Evento	201,97	234,80	60,89
	2° Evento	439,22	533,11	14,12
Lauril	1° Evento*	201,37	241,18	65,99
Extrato seco:Lauril	1° evento	75,55	113,49	4,75
	2° Evento*	204,92	248,76	43,50
Propilenoglicol	1° Evento	113,71	138,08	100,00
Extrato seco : Propilenoglicol	1° Evento*	94,90	189,72	54,74
BHT	1° Evento	149,18	181,04	99,25
Extrato seco:BHT	1° Evento	133,26	162,64	47,21
	2° Evento	222,14	300,50	12,64
MF	1° Evento	133,86	167,63	93,98
Extrato seco:MF	1° Evento	119,43	155,54	47,76
	2° Evento	216,21	327,50	13,29

Legenda: * - dois ou mais eventos térmicos de perda de massa consecutivos; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit®).

Fonte: Dados da pesquisa.

Ainda analisando o perfil do extrato seco, foi possível observar que a mistura binária com o laurilsulfato de sódio apresentou uma manutenção dos eventos de ambos os constituintes (excipiente e extrato seco) (Figura 17C e Tabela 14). Entretanto, quando avaliados o álcool cetosteárico (Figura 17B), propilenoglicol (Figura 17D), BHT (Figura 17E) e MF (Figura 17F), o perfil da mistura binária apresentou perfil térmico inicial semelhante ao perfil do excipiente isolado, mas com redução na perda de massa de cada mistura binária. Além de apresentar um perfil térmico final, acima de 250°C, aproximadamente, semelhante ao extrato.

De acordo com Lima (2019), esse fenômeno descrito pode ser justificado pela solubilização do extrato seco nos excipientes isolados. Levando em consideração que todos os excipientes citados acima apresentam ponto de fusão abaixo de 100°C (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), tornam-se duvidosas as respostas obtidas na análise da interação extrato-excipiente, apenas por esse método.

Diante desses resultados, a análise de cada mistura física, por FTIR, por exemplo, é de grande valia, podendo definir, categoricamente, a ocorrência de incompatibilidade química ou não (SILVA, 2019a). A existência de interação não é sinônimo de prejuízo, quando diante de uma forma farmacêutica. De acordo com Chadha & Bhandari (2014), a interação entre o IFA e os adjuvantes pode ser benéfica, quando pretende-se elevar a solubilidade do fármaco na forma farmacêutica, por exemplo.

4.6.2.2 Obtenção do creme à base de *V. multispicata*

A avaliação qualitativa dos excipientes, para a obtenção da base do creme, teve como finalidade verificar a aparência visual e sensação na pele, capacidade de estabilização e estruturação do creme (AULTON; TAYLOR, 2016), além de analisar o comportamento de algumas das formulações manipuladas frente à incorporação do extrato seco liofilizado (5% p/p).

Como foi descrito na Tabela 6, optou-se por uma variação dos surfactantes de naturezas iônicas diferentes (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013). No LB I, fez-se o uso de um agente emulsificante isolado e um surfactante aniônico, na proporção de 9:1 (p/p) (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; AULTON; TAYLOR, 2016). O LB II foi manipulado a partir de uma mistura de dois emulsificantes, juntamente com um surfactante não iônico (LIBÓRIO, 2016). A mesma mistura de emulsificantes foi realizada na manipulação do LBIII, mas, dessa vez, optando-se por um surfactante catiônico (AULTON; TAYLOR, 2016),

enquanto que no LB IV, foi alterada a concentração das ceras emulsificantes (monoestearato de glicerila a 10% e o álcool cetosteárico a 3%), combinados com o surfactante aniônico em menor concentração (lauril sulfato de sódio a 0,5%).

Na avaliação dos LBs obtidos, o LB I não se mostrou conforme o esperado, tanto na aparência visual, quanto na aplicação sob a pele. O agente de emulsificação e o surfactante, utilizados isoladamente, não foram suficientes para a formação e estabilidade da emulsão. Tanto o LB I, quanto o LB II apresentaram grumos quando manipulados.

Os LBs III e IV demonstraram melhores características visuais (coloração branca, com aspecto brilhoso e homogêneo) e sensitivas sob a pele (maior facilidade de aplicação). Todavia, quando o extrato seco liofilizado foi incorporado a essas bases, por ambos os métodos de incorporação, uma incompatibilidade física foi observada.

As bases do creme correspondentes aos LBs III e IV, quando tiveram o extrato seco incorporado de forma direta, apresentaram-se com características arenosas, após 48h em repouso. A perda das características da emulsão e alterações em seu aspecto físico, também foi descrita por Libório (2016), quando avaliada a incorporação do extrato hidroalcoólico das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh, seco por aspersão, à formulação cosmética semissólida, composta por álcool cetosteárico, álcool cetosteárico etoxilado, monoestearato de glicerila, propilenoglicol e outros excipientes. É sugestivo que a ocorrência de uma possível incompatibilidade do extrato (a 7,5% p/p) com alguns dos excipientes justifique a formação de grumos e finas granulações nas formulações.

Os LBs III e IV, após 48h de incorporação do extrato seco por levigação, apresentaram desestabilização da emulsão, com liberação de água e extrato. Sendo esse evento resultante do processo irreversível de coalescência, tendo como consequência a separação (ou quebra) de fases da emulsão (TOPAN, 2012).

Quando se fala do uso do monoestearato de glicerila como composto, não-iônico, obtido a partir da reação entre a glicerina e ácido esteárico (CORDEIRO, 2012), formador de emulsões (O/A ou A/O), vê-se esse excipiente como o mais simples dentre essa classificação e mais utilizado com essa finalidade, além de apresentar compatibilidade com substâncias não ácidas (CORDEIRO, 2012). Já o composto anfifílico graxo (álcool cetosteárico), quando associado ao surfactante aniônico da classe dos alquilsulfatos (o lauril sulfato de sódio) formam uma mistura eficiente capaz auxiliar na estabilização e estruturação de emulsões O/A (GOMES, 2011; AULTON; TAYLOR, 2016).

Diante dessas características, para a obtenção dos LBs V a VII, escolheu-se o monoestearato de glicerila, como agente emulsificante principal, e o álcool cetosteárico,

juntamente com o laurilsulfato de sódio, como agentes auxiliares no processo de emulsificação. Juntos, formaram uma emulsão O/A, com características desejadas: ausência de coalescência, manutenção da estabilidade e boa homogeneidade; onde, após incorporação do extrato aquoso de *V. multispicata* (10% p/p), os LBs manipulados foram submetidos aos testes consecutivos de controle de qualidade.

Sabendo-se que a conversão de dose entre espécies, com base na área da superfície corporal, não é suportada para medicamentos administrados por via tópica (NAIR; JACOB, 2016), a determinação da incorporação de 10% (p/p) do extrato aquoso de *V. multispicata* baseou-se em estudos prévios, realizado com pesquisadores parceiros, quanto o efeito cicatrizante diante dessa concentração, visando analisar os efeitos sob essa condição para, posteriormente, realizar variações e novas análises.

Quanto aos demais excipientes de escolha para a composição do creme à base de *V. multispicata*, o propilenoglicol, diante das suas inúmeras finalidades (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), apresenta como vantagem de uso, na forma farmacêutica tópica, o poder hidratante por umectação (LIMA, 2017), além de atuar como excipiente promotor de permeação cutânea (SOARES, 2017).

Sabendo-se que, dentre os componentes bioativos presentes no extrato aquoso de *V. multispicata*, encontram-se os flavonoides, e que sua estrutura polifenólica, assim como a dos taninos, é bastante vulnerável às enzimas oxidativas (NICHOLS; KATIYAR, 2010), foi escolhido o BHT, como antioxidante primário, inibindo a cadeia oxidativa, pelo mecanismo de “transmissão” de um átomo de hidrogênio (ou um elétron) para a espécie reativa (ARAUJO; BORIN, 2012).

Outro aspecto importante na escolha do antioxidante deve-se ao material plástico do recipiente para acondicionamento da formulação, no qual não se pode descartar o possível contato da amostra com o ar e com a luz (OLIVEIRA et al., 2019b), sendo colocada a proteção metálica apenas externamente. Esse fato pode favorecer as reações enzimáticas, que são expressas, geralmente, a partir de uma mudança no aspecto e de coloração (escurecimento) da formulação (SOUZA, 2019).

Na escolha dos excipientes com finalidade conservante, foi excluído o uso dos parabenos, pelas diversas contestações de seu uso e os relatos sobre incidência de alergias, dermatite de contato e possível interferência no sistema endócrino (QUERINO; SILVA, 2018). Sendo especulada essa última associação, devido ao uso cumulativo dos parabenos, já que fazem parte da composição de diversos produtos de higiene pessoal, cosméticos,

perfumes, medicamentos e alimentos, por mais de 70 anos (QUERINO; SILVA, 2018; FRANSWAY et al., 2019).

Contudo, Fransway e colaboradores (2019), afirmam que pode estar acontecendo o “paradoxo parabeno”, onde por um lado, existem relatos de reações adversas a esse grupo de conservantes, e por outro lado, setores da comunidade científica vêm toda essa questão como injustificada, onde o potencial tóxico dos parabenos é examinado intensamente e não se tem, até então, clareza suficiente sobre os riscos potenciais que os mesmos podem apresentar aos humanos.

Além disso, também devido ao material do recipiente de acondicionamento e o relato da absorção do metilparabeno por alguns tipos de materiais plásticos (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), excluiu-se o uso desse conservante, optando-se por um composto derivado da metilisotiazolinona e fenoxietanol, usado com o nome comercial Novamit[®]. Apresentando-se como um conservante de baixo grau de toxicidade, com atuação em ampla faixa de pH e livre de compostos halogenados (IPEL, 2020).

4.6.2.3 Controles de qualidade físico-químicos do creme

Os controles de qualidade exigidos para as formas farmacêuticas semissólidas foram realizados nos LB V, LB VI e LB VII, e estão demonstrados na Tabela 15 e Figuras 19, 20 e 21.

A partir dos resultados da Tabela 15, é possível constatar que os LBs obtidos, apresentaram características satisfatórias quanto à aparência e estabilidade visual, cor e aroma, atendendo as condições desejadas e apresentando-se compatível ao pH cutâneo (GUIMARÃES, 2018).

Já quando avaliadas por meio da análise sensorial, tornou-se necessário confrontar as peculiaridades dos LBs com os resultados obtidos a partir da espalhabilidade e viscosidade, sendo esses fatores influenciadores diretos na capacidade de aplicação, percepção tátil da formulação, aderência sobre a pele, além da influência sobre a viabilidade no enchimento e retirada da formulação do material de acondicionamento (MILAN et al., 2007; CORRÊA et al., 2015; ASSUNÇÃO, 2017).

No teste de espalhabilidade, observou-se que o LB VI e LB VII apresentaram perfil (Figura 19) e valores de espalhabilidades médias (Tabela 15) bastante semelhantes (48,03 e 47,88 cm²/g, respectivamente), mesmo com o LB VII apresentando maior concentração de cera emulsionante (10% de monoestearato de glicerila), maior dificuldade de aplicação e

efeito residual mais significativo sob a pele. Já o LB V exibiu espalhabilidade média bem inferior aos demais resultados, sendo equivalente a $43,42 \text{ cm}^2/\text{g}$ ($\pm 0,16$).

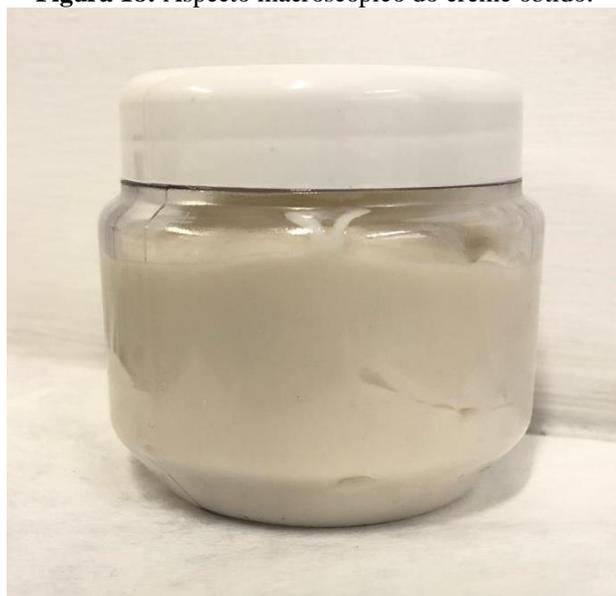
Tabela 15: Controle de qualidade físico-químico do creme à base do extrato seco de *V. multispicata*.

AMOSTRA	CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	pH	Ei (cm^2/g)
LB V	Análise sensorial: Melhor espalhabilidade, textura leve sem efeito residual.	5,33	$43,42 \pm 0,16$
LB VI	Análise sensorial: Boa espalhabilidade, efeito residual temporário até secagem.	5,21	$48,03 \pm 0,41$
LB VII	Análise sensorial: Textura mais concentrada, deixando a pele esbranquiçada após aplicação.	5,45	$47,88 \pm 0,40$

Legenda: LB - Lote de Bancada; Ei = espalhabilidade (média).

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 18: Aspecto macroscópico do creme obtido.



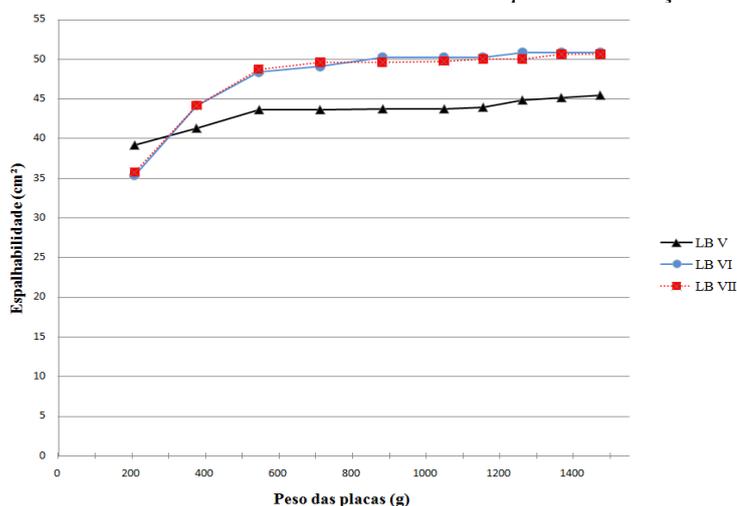
Fonte: Dados da pesquisa.

Diante disso, foi realizada a verificação da viscosidade dos LBs, para, juntamente com a determinação da espalhabilidade, avaliar as características reológicas e suas possíveis alterações (CORDEIRO, 2012). Para cada uma das formulações, o comportamento reológico foi avaliado diante da influência da taxa de cisalhamento frente à tensão de cisalhamento e a viscosidade, obtendo-se os reogramas demonstrados na Figura 20 e 21, respectivamente.

A caracterização reológica dos LBs V, VI e VII do creme à base de *V. multispicata* mostrou que as mesmas apresentaram comportamento não-Newtoniano e puderam ser classificadas como pseudoplásticas, devido às suas características de deformação onde a viscosidade é diminuída com o aumento do cisalhamento (Figura 21) (LAHOUD; CAMPOS, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016).

Já quando observado o comportamento das formulações no decorrer do tempo, os LBs classificaram-se como tixotrópicos (AULTON; TAYLOR, 2016), pois foi possível observar que uma área de histerese foi formada em todos os três reogramas (Figura 20 e 21), sendo mais destacado no LB VII, principalmente sob ação de diferentes tensões de cisalhamento, concluindo-se que a concentração do excipiente tem influência sob o comportamento da formulação. Assim, quanto maior a área de histerese, maior é a dependência reológica temporal (OLIVEIRA, 2018).

Figura 19: Espalhabilidade dos LBs do creme à base de *V. multispicata* em função do peso adicionado.



Legenda: LB V – monoestearato de glicerila 6%; LB VII - monoestearato de glicerila 8%; LB VII - monoestearato de glicerila 10%.

Fonte: Dados da pesquisa.

De maneira geral, os LBs apresentaram comportamento reológico já esperado, em que a variação crescente na concentração da cera emulsificante (6, 8 e 10%) contribuiu para o

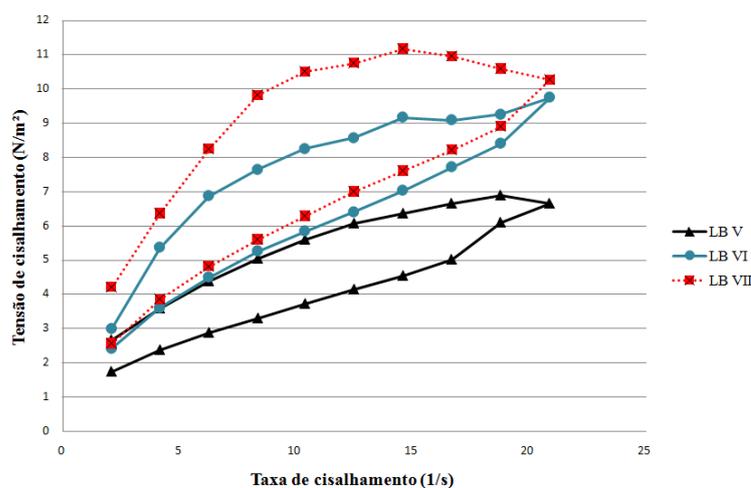
aumento da viscosidade do LB, corroborando com os dados obtidos a partir do estudo da espalhabilidade das formulações.

Contudo, para o LB VII é necessária que uma tensão de cisalhamento superior seja aplicada de maneira que o fluxo se inicie (Figura 20), ou seja, quando se relaciona esse fato ao mecanismo de aplicação do produto sob a pele, será necessária uma força maior e uma velocidade de aplicação, durante um determinado período, para que se chegue à finalidade pretendida (ALVES, 2014).

Da mesma maneira, a formulação do LB V pode apresentar-se insatisfatória quando aplicada, podendo permanecer por tempo reduzido (ou por tempo insuficiente) em contato com o local de aplicação (ALVES, 2014). A partir de uma força aplicada, a fluidificação desse LB é mais aparente (Figura 21), sendo possível ocorrer uma modificação na viscosidade a ponto de escoar facilmente sob a pele.

Os compêndios oficiais brasileiros (como a FB, por exemplo) não definem os parâmetros aceitáveis quanto à viscosidade das formulações (SOARES, 2017), e diversos fatores podem interferir na ação esperada do produto, como o pH, que pode modificar a segurança e eficácia, a partir da ação sob a velocidade de liberação do IFA (UEDA, 2009); as características organolépticas, que podem afetar na aceitabilidade pelos indivíduos; e a espalhabilidade, que está diretamente ligada com a aplicação da formulação, como já citado (GIL, 2010; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; GUIMARÃES, 2018).

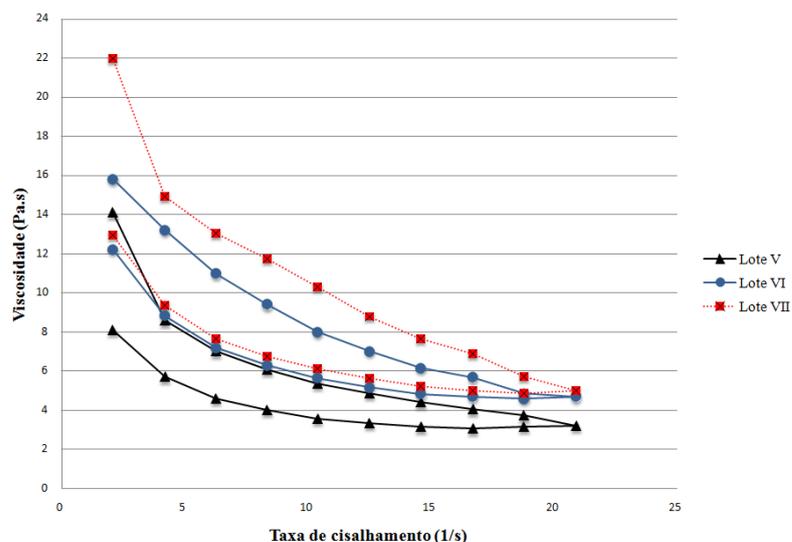
Figura 20: Reogramas dos LBs do creme à base de *V. multispicata*, expressos por tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento.



Legenda: LB V – monoestearato de glicerila 6%; LB VI - monoestearato de glicerila 8%; LB VII - monoestearato de glicerila 10%.

Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 21: Reogramas dos LBs do creme à base de *V. multispicata*, expressos por viscosidade versus taxa de cisalhamento.



Legenda: LB V – monoestearato de glicerila 6%; LB VI - monoestearato de glicerila 8%; LB VII - monoestearato de glicerila 10%.

Fonte: Dados da pesquisa.

Diante desses fatos, foi possível obter parâmetros da forma farmacêutica semissólida creme à base de *V. multispicata*, a partir da avaliação dos controles de qualidade verificados. Nesse estudo, o LB VI apresenta-se como uma promissora formulação a ser estudada quanto a sua ação antinociceptiva e anti-inflamatória tópica, como também uma possível avaliação do seu efeito cicatrizante, visto que Lopes e colaboradores (2019) obtiveram bons resultados para essas atividades biológicas na avaliação do extrato aquoso de *V. multispicata*, por via oral.

4.6.3 Gel à base de *V. multispicata*

4.6.3.1 Estudo de compatibilidade dos excipientes e do extrato seco liofilizado para a obtenção do gel à base de *V. multispicata*

As curvas TG obtidas no estudo de compatibilidade do extrato seco, excipientes e misturas binárias (extrato:excipiente - 1:1 p/p), utilizados na obtenção do gel, estão apresentadas na Figura 22, e todos os eventos térmicos estão descritos na Tabela 16, sendo expostas tanto as variações de temperatura quanto os percentuais de perda de massa ocorridos.

A partir da curva TG do Carbopol® isolado (Figura 22A), observou-se a perda de massa desse composto em três etapas. A primeira etapa torna-se sugestiva do início da perda de compostos voláteis, apresentando evento endotérmico com T_{pico} em 58,58°C e baixa perda

de massa (7,39%). O segundo evento sucedeu-se a partir de cinco eventos exotérmicos de perda consecutivos, ocorridos de forma lenta e gradativa, com início em 263°C e término em 399,34°C. Esse segundo evento térmico foi o de maior percentual de perda de massa (66,50%), e pode estar associado à degradação do excipiente (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). O terceiro evento de degradação apresentou 17,84% de perda de massa em T_{pico} equivalente a 545,66°C, também sendo caracterizado como um evento exotérmico (Tabela 16).

Quando avaliado o perfil térmico da mistura binária entre o extrato seco e Carbopol[®] (Figura 22A) foi perceptível a visualização de uma antecipação dos dois primeiros eventos iniciais de degradação do excipiente, Ambos apresentaram valores de perda de massa bastante reduzidos (Tabela 16). O primeiro evento endotérmico da mistura binária teve $T_{\text{pico}} = 55,91^\circ\text{C}$ e perda de massa em torno de 5,99%. O segundo evento, também endotérmico, teve perda de 17,25% e ocorreu entre a faixa de temperatura 206,92-250,20°C, enquanto que o terceiro evento, ocorrido a partir de dois eventos de perda de massa consecutivos, apresentou a maior porcentagem de perda de massa (27,21% a $T_{\text{pico}} = 350,94^\circ\text{C}$).

Levando em consideração a análise da mistura binária com enfoque no extrato seco de *V. multispicata*, é possível avaliar que todos os seus eventos térmicos de degradação tiveram as temperaturas de início antecipadas. O primeiro evento térmico, referente à volatilização dos compostos apresenta perda de massa inferior (5,99%), assim como o segundo evento, referente ao evento principal de degradação do extrato seco, que apresentou 17,25% de perda de massa com $T_{\text{pico}} = 258,91^\circ\text{C}$, estando dentro da faixa de temperatura do segundo evento térmico do Carbopol[®] isolado.

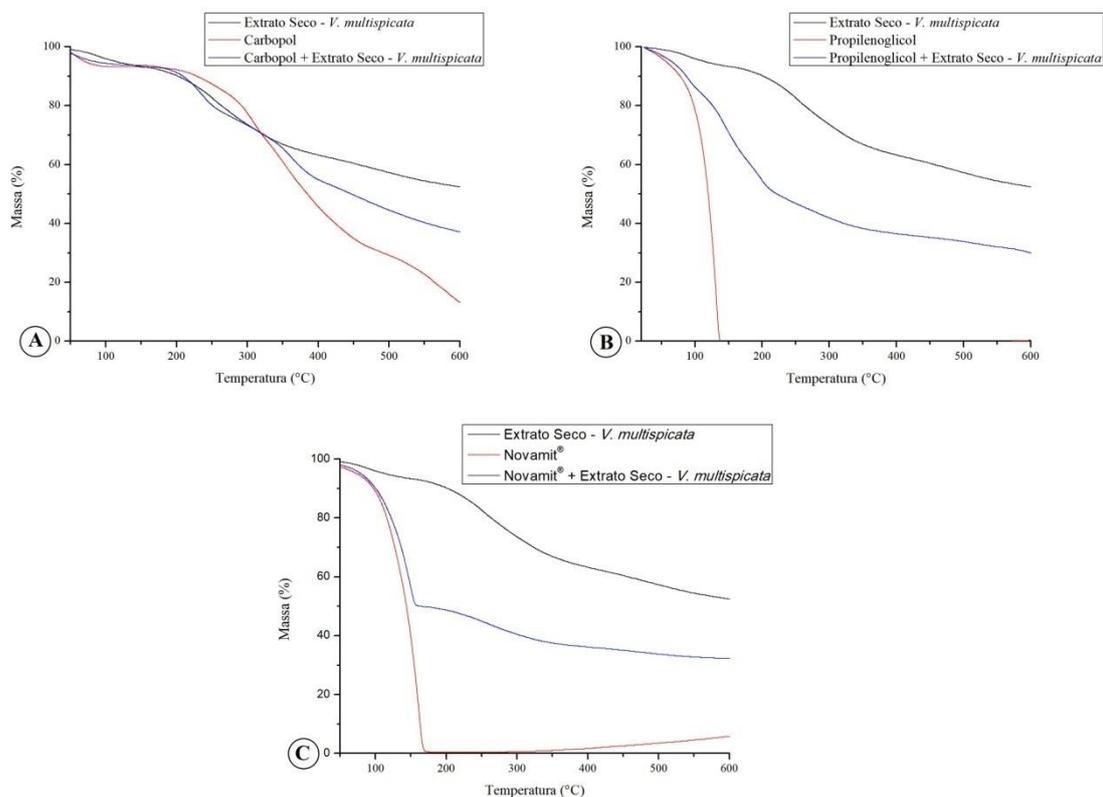
O recuo nas curvas TG também foi evidenciado no estudo de Arnillas (2017), quando realizou o teste de compatibilidade da mistura binária *Arnica montana* L. e Carbopol[®], sendo observada uma degradação hiperexotérmica ocorrida sucessivamente, resultando na interferência no equipamento e na antecipação da curva TG.

As considerações, referentes aos eventos térmicos dos demais excipientes (propilenoglicol e MF) e suas respectivas misturas binárias (1:1, p/p) com o extrato seco são idênticos aos dados expostos e discutidos anteriormente, no tópico 3.6.2.2.

De forma geral, assim como discutido nos estudos de compatibilidade das demais formas farmacêuticas, análises adicionais devem ser realizadas, optando-se por métodos não térmicos, como o FTIR, de forma que a real influência desses excipientes, em contato com o extrato seco de *V. multispicata*, possa ser avaliada de forma mais efetiva, além de ser viável a

consideração das possíveis interações com maior embasamento experimental (CHADHA; BHANDARI, 2014; SILVA, 2019a; VERAS et al., 2019).

Figura 22: Curvas termogravimétricas referentes ao extrato seco de *V. multispicata*, excipientes utilizados no gel (Carbopol®, propilenoglicol e MF - Novamit®) e misturas binárias (1:1 p/p).



Fonte: Dados da pesquisa.

4.6.3.2 Obtenção do gel à base de *V. multispicata*

Soares (2017) abordou que a realização de uma planificação qualitativa e quantitativa de excipientes são fatores críticos no estudo de pré-formulação de uma nova forma farmacêutica, pelo fato de que, a partir das peculiaridades dos excipientes, têm-se atuações distintas para cada formulação obtida.

Além disso, diante da preocupação, durante todo o processo de formulação, na manutenção dos IFAs vegetais, segundo Borella e colaboradores (2010), observa-se o benefício do desenvolvimento de formas farmacêuticas semissólidas a partir de preparações a frio, que também apresentam como vantagem, o melhoramento das suas características físicas.

Dessa forma, para o desenvolvimento do gel à base de *V. multiplicata*, optou-se pelo planejamento qualitativo, a partir de dois agentes geleificantes não dependentes de preparação sob aquecimento e com propriedades distintas entre si. O Carbopol[®], fazendo parte do grupo de agentes geleificantes orgânicos aniônicos; e o Natrosol[®], um hidrogel não iônico (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Tabela 16: Dados dos eventos térmicos ocorridos no estudo de compatibilidade do gel, onde foram analisados o extrato seco, excipientes e misturas binárias (1:1, p/p).

Amostra	Eventos	Temperatura inicial (°C)	Temperatura final (°C)	Perda de massa (%)
Extrato seco	1° Evento	66,32	110,46	6,05
	2° Evento	216,82	313,71	29,34
	3° Evento	452,62	482,57	7,35
Carbopol [®]	1° Evento	42,53	78,90	7,40
	2° Evento*	263,64	399,34	66,50
	3° Evento	545,66	572,70	17,84
Extrato seco : Carbopol [®]	1° Evento	29,15	80,80	5,99
	2° Evento	206,92	250,20	17,25
	3° Evento	341,17	383,83	27,21
Propilenoglicol	1° Evento	113,71	138,08	100,00
Extrato seco : Propilenoglicol	1° Evento*	94,90	189,72	54,74
MF	1° Evento	133,86	167,63	93,98
Extrato seco:MF	1° Evento	119,43	155,54	47,76
	2° Evento	216,21	327,50	13,29

Legenda: * - dois ou mais eventos térmicos de perda de massa consecutivos; MF - metilisotiazolinona e fenoxietanol (conservante Novamit[®]).

Fonte: Dados da pesquisa.

Para o desenvolvimento da forma farmacêutica semissólida gel, também foi escolhida a incorporação do extrato aquoso de *V. multispicata* 10% (p/p), como já descrito no tópico 4.6.2.1. Ao ser realizada a incorporação prévia do extrato seco dessa espécie vegetal (5% p/p em 95% p/p de base gel), foi perceptível a instabilidade da formulação, com quebra da malha e fluidificação do gel.

A hidroxietilcelulose, também conhecida como Natrosol[®], tem ampla aplicação na indústria farmacêutica (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009) sendo, na área dermatológica, o seu grande uso, principalmente por sua importância na veiculação de diversos ativos, como algumas substâncias não compatíveis com o Carbopol[®]. Também podem ser veiculados, por meio desse excipiente, os ativos que causam queda do pH final das formulações, por apresentarem caráter ácido (FERREIRA, 2000).

Esse fato se dá pela estabilidade do Natrosol[®] em ampla faixa de pH (2 a 12). Entretanto, em pH <5, pode sofrer hidrólise e, em pH muito elevado, pode ocorrer oxidação (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Além disso, como desvantagem, relatos associam o seu uso com o maior risco de contaminação microbiana em formulações (MELO; DOMINGUES; LIMA, 2018).

Perante a incorporação do extrato aquoso de *V. multispicata* (10% p/p), a base gel de Natrosol[®] (90% p/p), nas diferentes concentrações (LBs I a III), foram obtidos geis homogêneos e aparentemente estáveis.

Quanto ao outro agente geleificante utilizado no desenvolvimento do gel à base de *V. multispicata*, têm-se o Carbopol[®] (excipiente pertencente à classe dos carbômeros) que é bastante utilizado em diversas formulações líquidas ou semissólidas, como modificador de reologia (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009), sendo o Carbopol 940[®] considerado a resina de carbopol mais eficiente (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Devido ao Carbopol[®] ser um composto aniônico, pH dependente (ou seja, necessita de neutralização para atingir a eficiência máxima de viscosidade (DI GIUSEPPE et al., 2015)), com boa capacidade tamponante e por possuir propriedades reológicas adequadas (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013), apresenta maior tempo de permanência sob o local da administração, além de contribuir para manutenção do pH adequado da formulação (MERCLIN et al., 2004).

Ao ter o extrato aquoso de *V. multispicata* incorporado à base gel de Carbopol[®], nas diferentes concentrações, os LBs IV a VI apresentaram-se como geis homogêneos, aparentemente estáveis e com maior consistência (SOUZA et al., 2016) quando comparado aos LBs I a III. Além disso, os géis mostraram-se translúcidos, visto que, na faixa de pH 4,0 a 5,5, o agente geleificante já apresenta essa característica de transparência (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Como supracitado, o extrato foi adequadamente incorporado em ambas as bases, formadas por agentes geleificantes com características distintas. Todos os LBs (I a VI) apresentaram aspecto homogêneo, sem indicativos de instabilidade, como partículas,

separação de fases e precipitados, por exemplo (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; SOUZA et al., 2016; BORELLA et al., 2018).

O estudo realizado por Queiroz, em 2008, também mostrou o desenvolvimento de um gel à base do extrato de *Matricaria recutita* L., onde foram analisados os comportamentos das formulações utilizando o Carbopol 940[®], Natrosol[®] e Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), como agente geleificantes. Na análise preliminar da estabilidade das formulações obtidas, observou-se que os géis de Natrosol[®] apresentaram uma alteração no perfil reológico, com aumento da viscosidade. Contudo, essa variação não foi encontrada quando comparado com os géis de HPMC e Carbopol[®], sendo esse último a amostra que apresentou menor interferência na viscosidade.

Cordeiro e colaboradores (2013) também tiveram resultados favoráveis nas formulações do gel dermatológico à base de *Zingiber officinale* Roscoe, contendo Carbopol 940[®] em sua composição. Os LBs manipulados, com esse excipiente, não apresentaram qualquer instabilidade até última análise do estudo; mas, já nas formulações à base de Natrosol[®], indícios de pequenas alterações organolépticas já se mostraram com 30 dias de análise.

Em meio aos resultados desses estudos científicos; por precaução pelo fato das formulações fitoterápicas terem maior propensão a sofrer alterações físico-químicas (RECHIA, 2010) e pelo Carbopol[®] ser um excipiente farmacêutico amplamente utilizado no âmbito farmacêutico (QUEIROZ, 2008; RECHIA, 2010), também fazendo parte da composição de formulações fitoterápicas tópicas já comercializadas, esse excipiente foi escolhido como o agente geleificante para melhor veiculação do extrato de *V. multispicata* 10% (p/p). Sendo, os LBs IV a VI submetidos aos testes consecutivos de controle de qualidade.

Não se optou pelo uso de um antioxidante na composição do gel, assim como foi utilizado no desenvolvimento do creme. Têm-se a finalidade de avaliar a possibilidade da formulação apresentar alterações decorrentes de oxidação, necessitando de um antioxidante auxiliar, mesmo o extrato aquoso exibindo evidências significativas de potencial antioxidante, no estudo de Lopes e colaboradores (2019).

Quanto aos demais excipientes de escolha para a composição do gel à base de *V. multispicata*, o propilenoglicol e o MF também fizeram parte dessas formulações diante das vantagens de uso, na forma farmacêutica tópica, como já citado no tópico 4.6.2.1.

4.6.3.3 Controles de qualidade físico-químicos aplicados ao gel

Os controles de qualidade exigidos para as formas farmacêuticas semissólidas foram realizados nos LB IV, LB V e LB VI, e estão demonstrados na Tabela 17, e Figuras 24, 25 e 26.

Todos os LBs obtidos demonstraram estabilidade física, aparência visual agradável e pH adequado para a aplicação na pele (Tabela 17) (GUIMARÃES, 2018). Sabendo-se que a viscosidade do gel depende tanto da presença de eletrólitos quanto do pH (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013), torna-se fundamental a avaliação desse último parâmetro em todas as etapas do desenvolvimento e estabilidade dessa forma farmacêutica semissólida.

A caracterização reológica dos LBs IV, V e VI do gel, à base de *V. multispicata*, foi realizada e avaliada diante da influência da taxa de cisalhamento frente à tensão de cisalhamento e a viscosidade, obtendo-se os reogramas demonstrados nas Figuras 24 e 25, respectivamente.

Os LBs possuem comportamento não-Newtoniano e, por terem apresentado diminuição da viscosidade a partir de um gradiente de deformação (Figura 25), são classificados como pseudoplásticos (LAHOUD; CAMPOS, 2010; AULTON; TAYLOR, 2016), sendo esse um perfil apropriado para forma farmacêutica de uso tópico, visto que reflete na aplicação do produto (SILVA, 2016).

Tabela 17: Controle de qualidade físico-químico do gel à base do extrato seco de *V. multispicata*.

Amostra	Características organolépticas		pH	Ei (cm ² /g)
LB IV	Análise sensorial:	fácil aplicação, rápida secagem e sem efeito residual.	5,80	39,12 ± 0,71
LB V	Análise sensorial:	fácil aplicação, rápida secagem e sem efeito residual.	5,74	23,99 ± 0,66
LB VI	Análise sensorial:	fácil aplicação, gel mais consistente, com secagem mais demorada, mas sem efeito residual.	5,72	20,95 ± 0,85

Legenda: LB - Lote de Bancada; Ei = espalhabilidade (média).

Fonte: Dados da pesquisa.

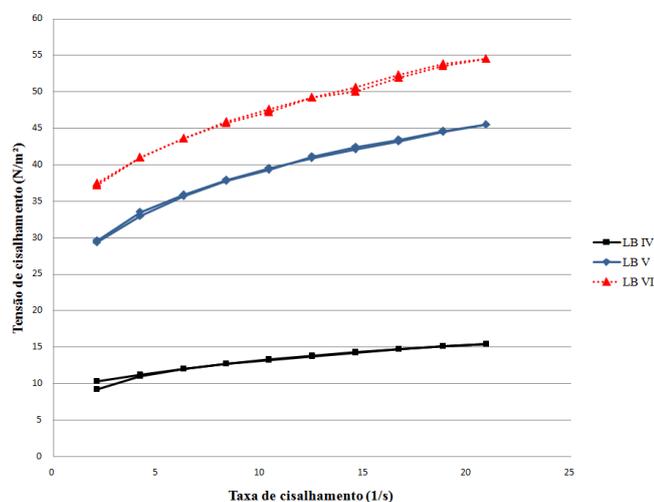
O LB com maior concentração do agente geleificante em sua composição (LB VI) tem o escoamento iniciado apenas após ser sujeito a uma tensão de cisalhamento maior (ALVES, 2014) (Figura 24), assim como identificado no LB VII do creme à base de *V. multispicata*, justificando a análise sensorial do gel (LB VI) descrita na Tabela 17. Enquanto que o evento contrário é observado no comportamento reológico do LB IV, onde, em uma baixa força aplicada, ocorre a fluidificação do produto. Todavia, também têm-se a preocupação de, assim como no LB V do creme, esse ser um fator que afete a aderência do LB IV do gel sobre a pele e influencie no processo de acondicionamento do produto (MILAN et al., 2007; ALVES, 2014; CORRÊA et al., 2015; ASSUNÇÃO, 2017).

Figura 23: Aspecto macroscópico do gel obtido.



Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 24: Reogramas dos LBs do gel à base de *V. multispicata*, expresso por tensão de cisalhamento versus taxa de cisalhamento.

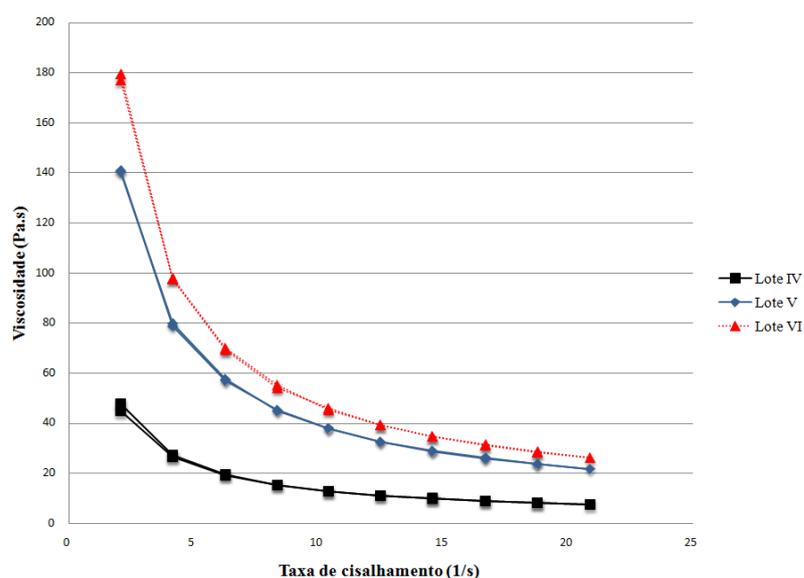


Legenda: LB IV – Carbopol® 0,5%; LB V - Carbopol® 1,0%; LB VI - Carbopol® 1,5%.

Fonte: Dados da Pesquisa.

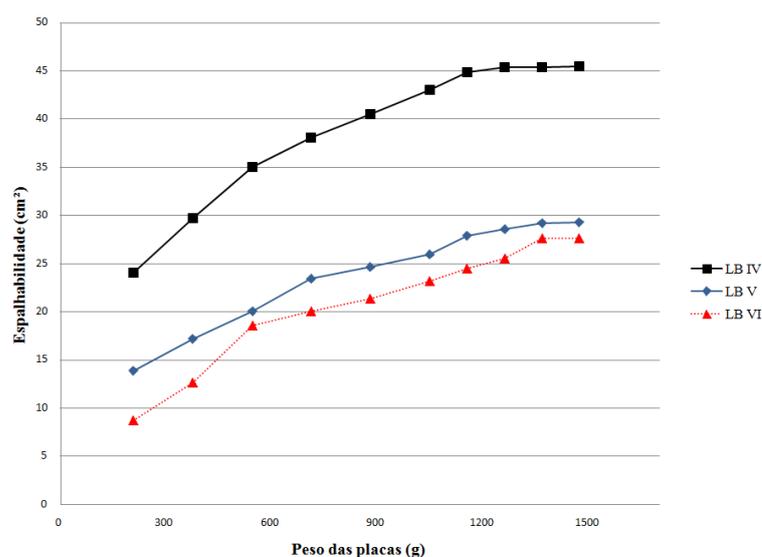
Contudo, diferentemente dos resultados obtidos na caracterização do comportamento reológico do creme à base de *V. multispicata*, é possível observar, tanto na Figura 24 como na Figura 25, que praticamente não são visíveis as áreas de histerese entre as curvas ascendentes e descendentes, ocorrendo uma sobreposição das mesmas. Dessa forma, conclui-se que os LBs do gel obtidos são isentos de tixotropia (SILVA, 2003).

Figura 25: Reogramas dos LBs do gel à base de *V. multispicata*, expresso por viscosidade versus taxa de cisalhamento.



Legenda: LB IV – Carbopol® 0,5%; LB V - Carbopol® 1,0%; LB VI - Carbopol® 1,5%.
Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 26: Espalhabilidade dos LBs do gel à base de *V. multispicata* em função do peso adicionado.



Legenda: LB IV – Carbopol® 0,5%; LB V - Carbopol® 1,0%; LB VI - Carbopol® 1,5%.
Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados obtidos, a partir dos testes de espalhabilidade (Figura 26), corroboram com os dados da viscosidade do gel, sendo esses dois fatores interferentes diretos na aplicação da formulação sob a pele, como já citado (GIL, 2010; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013; SILVA, 2016; GUIMARÃES, 2018).

É válido ressaltar que todos os LBs, avaliados no desenvolvimento do gel à base de *V. multispicata*, foram manipulados com variação de 0,5% (p/p) do agente geleificante, entre um lote e outro. Contudo, os resultados obtidos não apresentaram uma proporcionalidade, como foi visto a partir do valor de espalhabilidade média dos LBs IV, V e VI equivalentes a 39,12; 23,99 e 20,95 cm²/g, respectivamente (Tabela 17).

O LB IV, contendo o Carbopol® (0,5% p/p) em sua formulação, apresentou capacidade de espalhamento bem superior, quando comparado com os demais LBs V e VI, que, por conseguinte, mostraram perfil de espalhabilidade (Figura 26) e espalhabilidades médias bem aproximadas (Tabela 17). Esses resultados reforçam o fato de que a concentração do excipiente de maior relevância influi diretamente na espalhabilidade da formulação, sendo necessário, em vários casos, o aumento na concentração desse excipiente, como forma de reparo da perda de viscosidade (ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Diante desses fatos, além de uma nova forma farmacêutica semissólida ter sido desenvolvida, foi possível obter importantes parâmetros para o controle de qualidade do gel à base de *V. multispicata*. Dessa forma, a partir dos resultados obtidos no desenvolvimento do gel e diante da finalidade de continuação dos estudos com esse produto, pode-se avaliar o potencial antioxidante da formulação do LB V do gel, sendo essa uma promissora formulação a ser explorada quanto a sua possível ação antinociceptiva, anti-inflamatória e cicatrizante tópica.

4.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA: SOLUÇÃO ORAL

Diante da comprovação da atividade anti-inflamatória e antinociceptiva, dependente da dose (DE50= 146,89 mg/kg), do extrato seco aquoso de *V. multispicata*, e da capacidade de redução da migração leucocitária induzida pela carragenina (LOPES et al., 2019), o presente estudo também avaliou a redução de percepção da dor e o efeito sobre a migração leucocitária do extrato de *V. multispicata* incorporado a uma forma farmacêutica líquida (solução oral, 15 mg/mL de extrato seco).

A administração da solução oral à base de *V. multispicata* (150 mg/kg) promoveu uma redução de, aproximadamente, 85% no número de contorções abdominais, em comparação

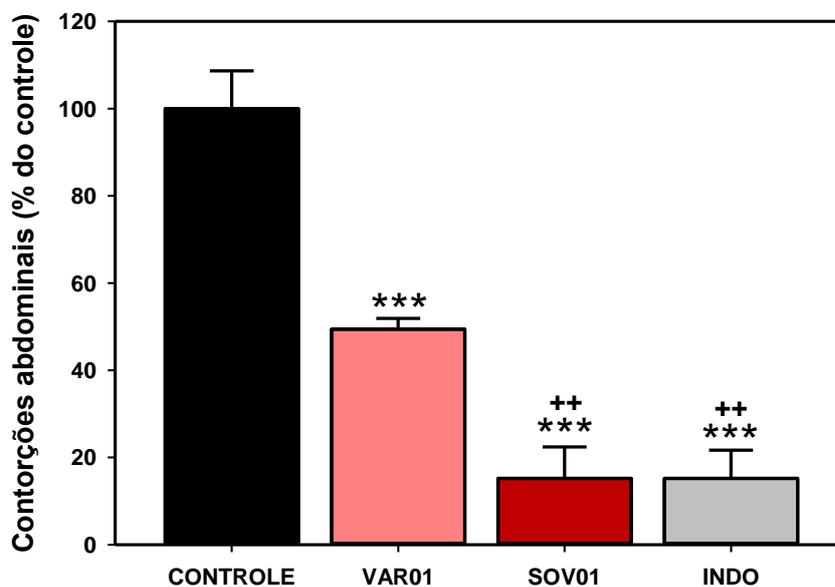
com o grupo controle, como pode ser avaliado na Figura 27. Quando são comparados os resultados obtidos com o percentual do número total de contorções do grupo controle, é possível observar que a solução oral manifestou potência equivalente ao padrão Indometacina (10 mg/kg) e eficácia cerca de 1,7 vezes superior ao efeito produzido pelo extrato seco liofilizado (150 mg/kg) (Figura 27), o qual promoveu uma redução de aproximadamente 50% das contorções.

Portanto, sendo esse teste um modelo de dor visceral utilizado para avaliação de compostos com possível potencial analgésico, têm-se manifestações motoras de contração/rotação abdominal e extensão das patas posteriores, como resposta à hiperalgesia, induzida pelo ácido acético. É válido ressaltar, que a experiência de nocicepção inflamatória induz a ativação e mobilização de mediadores humorais (serotonina, histamina, bradicinina, PGs, óxido nítrico, interleucinas, por exemplo) e mediadores celulares da inflamação (macrófagos e mastócitos), com a ativação de canais iônicos não seletivos (RANG et al., 2016).

Entre os processos envolvidos na resposta inflamatória e algica, o extravasamento plasmático e migração leucocitária representam eventos importantes na gênese e evolução de doenças inflamatórias agudas e crônicas. A administração intraperitoneal de LPS, como componente bacteriano imunogênico, promove intensa peritonite, através da ativação de receptores do tipo Toll e indução da expressão de mediadores inflamatórios, de vasodilatação local e expressão de moléculas que mediam da migração leucocitária. Como consequência, ocorre intensa migração de leucócitos para a cavidade peritoneal.

Dessa forma, no tratamento dos ratos submetidos ao quadro de peritonite induzida por LPS, o número de células no lavado peritoneal aumentou em torno de 75% em comparação com o “grupo branco”. O anti-inflamatório padrão, Indometacina (10 mg/kg), inibiu plenamente a indução da migração leucocitária (Figura 28). Já no grupo de animais em que foi administrado o extrato seco liofilizado de *V. multispicata* (150 mg/kg) (VAR01), também foi observada uma inibição completa da migração leucocitária, resultando em um efeito redutor no número de leucócitos totais. Enquanto que para o grupo de animais em que foi administrada a solução oral a base de *V. multispicata* (15 mg/kg), em uma dose 10 vezes menor que a do extrato seco, a redução da migração leucocitária induzida pelo LPS ocorreu de forma bastante significativa (Figura 28), quando comparada com os demais grupos experimentais.

Figura 27: Efeito da solução oral de *V. multispicata* sobre as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (0,6%; v/v), em comparação com os efeitos promovidos pelo extrato seco e pela indometacina.



Legenda: SOV01: solução oral (150 mg/kg); VAR01: extrato seco liofilizado (150 mg/kg); INDO: Indometacina (10 mg/kg); *** $p < 0,001$ versus CONTROLE; ++ $p < 0,01$ versus VAR01. Dados expressos como média \pm e.p.m. (n=6 por grupo) do percentual de resposta nociceptiva em comparação com o grupo controle (100%).
Fonte: Dados da pesquisa.

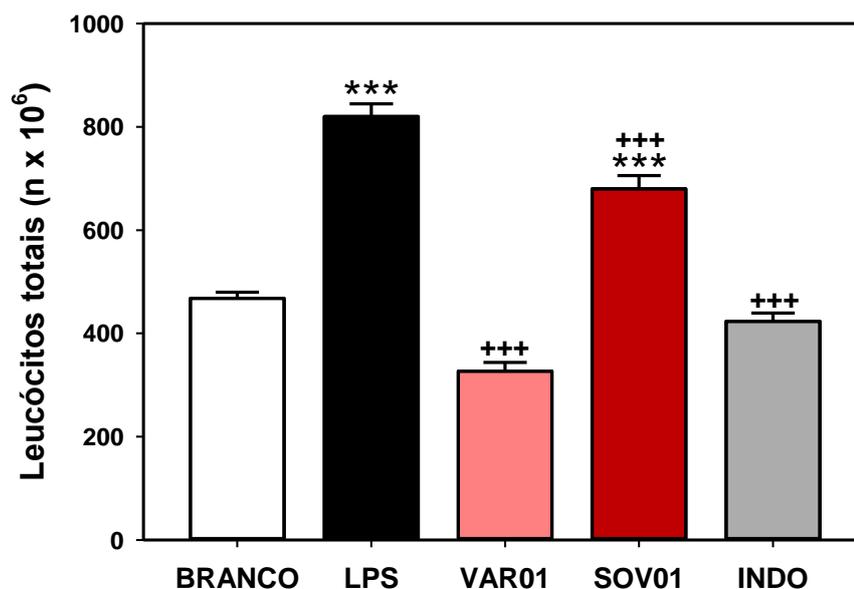
Diante de tais achados, pressupõe-se que o potencial terapêutico destacável, observado na solução oral desenvolvida, pode estar relacionado à concentração dos extratos secos e a sua absorção após administração. Quando comparado a um extrato fluido, os extratos secos apresentam-se quatro a cinco vezes mais potentes, além disso, os IFAs apresentam absorção mais eficaz e rápida, quando incorporados a soluções aquosas orais, podendo ocorrer durante todo o trato gastrointestinal, sendo absorvido mais em determinadas regiões de acordo com as características do próprio IFA (LEITE, 2009; ALLEN Jr.; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Além disso, outro aspecto a ser considerado é o aumento da biodisponibilidade do IFA frente ao uso do sorbitol como excipiente farmacêutico. Dash, Srinivas e Babu, em 2019, relataram algumas questões entre o uso desse composto e sua interferência na absorção e biodisponibilidade de drogas, seja de forma positiva ou negativa.

Nesse estudo, foi realizada uma revisão da literatura de vários medicamentos, escolhendo-se as substâncias que tinham disponíveis os dados farmacocinéticos, com ou sem a influência do sorbitol. De maneira geral, sugeriram que a disposição farmacocinética de vários medicamentos influenciada pelo sorbitol, pode estar estruturada no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) dos compostos (DASH; SRINIVAS; BABU, 2019), sendo analisados medicamentos pertencentes à SCB classe I (metropolol, teofilina,

fenobarbital, salicilatos), classe II (risperidona) e classe III (lamivudina, ranitidina, cimetidina e aciclovir). Excluindo-se os medicamentos da classe IV por indisponibilidade de relatórios (DASH; SRINIVAS; BABU, 2019).

Figura 28: Efeito da solução oral de *V. multispicata* sobre a migração leucocitária induzida pela administração intraperitoneal de LPS em comparação com os efeitos promovidos pelo extrato seco e pela Indometacina.



Legenda: SOV01: solução oral (15 mg/kg); VAR01: extrato seco liofilizado (150 mg/kg); INDO: Indometacina (10 mg/kg); LPS: lipopolissacarídeo; ***p < 0,001 versus BRANCO; ++p < 0,01 versus LPS. Dados expressos como média ± e.p.m. (n=6 por grupo) do percentual de resposta nociceptiva em comparação com o grupo controle (100%).

Fonte: Dados da pesquisa.

Concluiu-se, portanto, que os compostos com mecanismo osmótico, como o sorbitol, influenciaram apenas a absorção dos medicamentos SCB classe II e III, não interferindo na absorção dos medicamentos classe I. Contudo, relatos ainda especulam a relação de interferência farmacocinética diferenciada do sorbitol frente a um medicamento SBC classe I apresentando liberação modificada ou liberação sustentada (DASH; SRINIVAS; BABU, 2019).

Dash, Srinivas & Babu (2019) também descreveram que em estudos anteriores, níveis séricos de vitamina B12 mostrou-se aumentado, em alguns indivíduos, quando incorporado o D-sorbitol em uma forma farmacêutica líquida (xarope) (CHOW et al., 1958; CHALMERS; SHINTON, 1959).

Têm-se uma maior preocupação quanto aos complexos conjuntos de compostos ativos presentes nas plantas medicinais, visto que a biodisponibilidade desses pode ser influenciada

por muitos fatores físico-químicos como: tipo de composto bioativo, polaridade, massa molecular, ação de enzimas gastrointestinais, absorção pelos enterócitos, ação de enzimas de fase II, interações e metabolização por parte da microbiota (MOURÃO et al., 2005; OZDAL et al., 2016; BRESCIANI et al., 2017; ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019).

Como já citado, a *V. multispicata* apresenta-se como uma espécie rica em compostos fenólicos (LOPES et al., 2019), e a bioacessibilidade e biodisponibilidade desses compostos é bastante variável (LOPES NETO, 2017). A metabolização por parte da microbiota é o principal fator de interferência quando refere-se à biodisponibilidade desses compostos, sendo a sua estrutura química determinante no grau de absorção intestinal (MOURÃO et al., 2005; OZDAL et al., 2016; BRESCIANI et al., 2017; ARNOSO; COSTA; SCHMIDT, 2019).

Até então, esses mecanismos de absorção intestinal não são totalmente conhecidos, contudo, sabe-se que compostos fenólicos que apresentam estruturas moleculares de menor tamanho (ácidos fenólicos, isoflavonas, catequinas, flavonas e glicosídeos de quercetina, por exemplo), têm sua absorção facilitada a nível intestinal (LOPES NETO, 2017).

Dessa forma, os resultados obtidos ratificam o potencial terapêutico do extrato seco de *V. multispicata*, quando incorporado na forma farmacêutica líquida, além de existir uma possível ação vinculada à dor inflamatória e à via das PGs.

4.8 ESTUDO DE ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS FORMAS FARMACÊUTICAS

Os LBs II, VI e V da solução oral, creme e gel, respectivamente, foram lançados na câmara de estabilidade para início do Estudo de Estabilidade Acelerado no mês de dezembro de 2019. Contudo, não foi possível realizar os controles de qualidade dos LBs nos tempos de 3 e 6 meses, devido a pandemia da COVID-19.

Os LBs das formas farmacêuticas semissólidas (VI e V da solução oral, creme e gel, respectivamente) também foram lançados na câmara de fotoestabilidade, mas devido a problemas pré-analíticos, não foi dado prosseguimento às análises.

Na Figura 29 estão expostas as formas farmacêuticas obtidas à base de *V. multispicata*, após 8 meses em câmara de estabilidade. A partir de uma análise das características organolépticas apenas, foi verificado que a solução oral (Figura 29A) e o creme (Figura 29B) tiveram todas as características visuais preservadas, sem a presença de nenhuma instabilidade física.

Todavia, a formulação referente ao gel à base de *V. multispicata* (Figura 29C), apresentou uma modificação de cor, característica de uma ação oxidante, ratificando a

necessidade de adição de um agente estabilizante (antioxidante), como o BHT na formulação, como foi utilizado na composição da forma farmacêutica semissólida creme.

Figura 29: Formas farmacêuticas obtidas à base de *V. multispicata*, após 8 meses em câmara de estabilidade.



Legenda: A- Solução oral; B- Creme; C- Gel.

Fonte: Dados da pesquisa.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho contribuíram para o conhecimento e certificação da droga vegetal, à base de *V. multispicata*, já bastante utilizado na terapia popular. Foi possível afirmar que a droga vegetal, extrato fluido e extrato seco de *V. multispicata* apresentam-se conforme aos parâmetros de controle de qualidade físico-químicos que foram aplicados.

Além disso, pôde-se confrontar os resultados do perfil fitoquímico, obtido no estudo, com dados já descritos na literatura, reafirmando a presença de vários grupos de compostos fenólicos no material vegetal, demonstrando, por Espectroscopia UV-vis, 242,3 mgAG/g equivalentes a ácido gálico. E, a partir de uma planificação qualitativa e quantitativa de excipientes, foram desenvolvidas e obtidas diferentes formulações preliminares da solução oral, creme e gel à base de *V. multispicata*.

A solução oral à base de *V. multispicata* (15 mg/mL) foi obtida a partir de uma variação na concentração de sorbitol (25, 30 e 35%), como cossolvente da formulação, obtendo-se três LBs os quais foram submetidos aos controles de qualidade aplicáveis, definindo o LB II como a amostra dentro dos padrões esperados para prosseguimento do *fingerprint* da solução oral, por CLAE, e avaliação da atividade farmacológica.

A partir do *fingerprint*, foi verificado que os constituintes do extrato seco, também estavam expressos na solução oral à base de *V. multispicata*, demonstrando a não interferência negativa dos excipientes na formulação, quando avaliados os metabólitos secundários. Assim como no estudo de Lopes e colaboradores (2019), verificou-se a presença de quercetina-3-*O*-robinobiosídeo, kaempferol, 5,6'-di-hidroxi-7,2', 4', 5'-tetrametoxiflavona e 5-hidroxi-3,7,3', 4'-tetrametoxiflavona.

Já na avaliação da atividade antinoceptiva, a solução oral (150 mg/kg), apresentou eficácia cerca de 1,7 vezes superior ao efeito produzido pelo extrato seco liofilizado (150 mg/kg), ao reduzir, aproximadamente, 85% no número de contorções abdominais dos animais; além de promover uma redução significativa da migração leucocitária induzida pelo LPS, mesmo tendo sido administrada a solução oral (15 mg/kg) numa concentração 10 vezes inferior a do extrato seco (150 mg/kg).

As formas farmacêuticas semissólidas, creme e gel, à base de *V. multispicata* foram obtidas a partir de uma variação na concentração dos surfactantes e agentes geleificantes, respectivamente. Os controles de qualidade: características organolépticas, pH, espalhabilidade e viscosidade, foram realizados para cada uma das formulações.

A partir desses resultados experimentais, em especial aos resultados obtidos a partir da espalhabilidade e viscosidade dos LBs, foi possível determinar a que percentual de variação dos excipientes a formulação apresentava resultados satisfatórios. Sendo esses os principais parâmetros para escolha das melhores formulações do creme (LB VI) e do gel (LB V), as quais se mostraram como promissoras formulações a serem estudadas quanto a possível ação antinociceptiva, anti-inflamatória e cicatrizante tópica.

Diante do exposto, a qualidade físico-química do IFA vegetal foi garantida, além de terem sido desenvolvidas três formulações, preliminares, à base de *V. multispicata*, apresentando-se como futuras alternativas, na terapia isolada ou complementar, do tratamento da dor e da inflamação.

5.1 PERSPECTIVAS

Diante dos objetivos não alcançados com o presente trabalho e pretendendo-se dar continuidade ao estudo com *V. multispicata*, têm-se como perspectivas:

- *Complementação da caracterização físico-química do extrato seco*: Repetição tanto da determinação do índice de espuma, seguindo metodologia da FB, 6ª ed. (BRASIL, 2019a), quanto da prospecção fitoquímica, por CCD, dos metabólitos secundários pertencentes à classe dos terpenos;
- *Prosseguimento do estudo de compatibilidade dos excipientes*: Realizando-se análises adicionais das misturas binárias (extrato seco-excipientes), por métodos não térmicos (SILVA, 2019a; VERAS et al., 2019), por exemplo.
- *Complementação de estudos referentes à solução oral à base de V. multispicata*: Sugere-se a realização de uma variação qualitativa e quantitativa de diferentes edulcorantes pode ser aplicada (aspartame, sucralose e xilitol, por exemplo) e teste com conservante diferente dos parabens. Também é proposta a realização da pesquisa de satisfação da solução oral, a partir de um “Painel Sensorial Humano”, tendo como exemplo o documento presente no Apêndice A, após submissão no Comitê de Ética. Quanto à atividade farmacológica da forma farmacêutica líquida, torna-se necessário a realização de estudos adicionais, a fim de caracterizar, de forma mais concreta, a sua eficácia e segurança, bem como os mecanismos subjacentes;

- *Complementação de estudos referentes às formas farmacêuticas semissólidas à base de V. multispicata:* Deve-se realizar uma otimização da formulação da forma farmacêutica gel, propondo-se adição de agente antioxidante. O desenvolvimento e validação do método analítico para o doseamento tanto do creme, como do gel obtidos, deve ser realizado a fim de agregar informações sobre o controle de qualidade físico-químico dessas formulações. Além disso, os testes referentes às atividades farmacológicas e sensibilidade dérmica, *in vivo*, das formas farmacêuticas semissólidas, devem ser feitos;
- *Realização do controle de qualidade microbiológico das formas farmacêuticas desenvolvidas:* De forma a garantir que as formulações atendam as especificações determinadas quanto aos limites aceitáveis para micro-organismos. Devido ao elevado teor de água dos produtos acabados e por terem origem vegetal, os testes adequados devem ser realizados rotineiramente (BRASIL, 2019a);
- *Estudos de Estabilidade:* Diante dos contratempos no andamento do Estudo de Estabilidade Acelerada e Fotoestabilidade de todas as formulações, torna-se necessário uma retomada dessas análises a partir da fase inicial, após desenvolvimento e validação do método analítico para o doseamento das formas farmacêuticas (BRASIL, 2019b). Sugerindo-se, para as formas farmacêuticas semissólidas, ao realizar o estudo do comportamento reológico, analisar as histereses formadas e sua relação com a estabilidade das formulações (MELO, 2008; LIBÓRIO, 2016);
- *Elaboração e submissão da patente e artigo científico.*

REFERÊNCIAS

- ABDEL-NAEEM, H. H. S.; MOHAMED, H. M. H. Improving the physico-chemical and sensory characteristics of camel meat burger patties using ginger extract and papain. **Meat Science**, Austrália, v. 118, p. 52–60, 2016.
- AGRA, M. F. *et al.* Medicinal and poisonous diversity of the flora of “Cariri Paraibano”, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 111, p. 383–395, 2007.
- ALBUQUERQUE, U. P. *et al.* Medicinal plants of the *caatinga* (semi-arid) vegetation of NE Brazil: A quantitative approach. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 114, p. 325–354, 2007.
- ALLEN Jr., L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.
- ALVAREDA, F. Q. *et al.* Atividade antinociceptiva e antimicrobiana da casca do caule de *Psidium cattleyanum* Sabine. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v. 17, n. 4, p. 1125-1133, 2015.
- ALVES, E. F.; SANTOS, B. S.; MATIAS, E. F. F. Avaliação da atividade antibacteriana e modulatória da fração hexânica do extrato hexânico de *Cordia verbenacea* DC. **Revista Interfaces: Saúde, Humanas e Tecnologia**, Juazeiro do Norte, v. 2, n. 5, 2014.
- ALVES, L. D. S. ***Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae): da droga vegetal a forma farmacêutica semissólida para o tratamento do HPV**. 2014. 165 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.
- ANATOMIA EM FOCO. **Paladar (Gustação)** – Anatomia e função das papilas gustativas. Disponível em: <https://www.anatomiaemfoco.com.br/paladar-gustacao/>. Acesso em: 16 ago. 2020.
- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consolidado de normas de registro e notificação de fitoterápicos**. Gerência de Medicamentos Específicos, Notificados, Fitoterápicos, Dinamizados e Gases Medicinais. Gerência-Geral de Medicamentos e Produtos Biológicos. Brasília: Anvisa, 2018. 655 f.
- ARAUJO, A. C. F.; BORIN, M. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. **Brasília Médica**, Brasília, v. 49, n. 4, p. 267-278, 2012.
- AREIAS, S. F.; SOUSA, M. I. A.; PAULINO, C. A. Lactose e Parabenos em Formulações Medicamentosas Orais Utilizadas Por Idosos Vestibulopatas. **Revista Equilíbrio Corporal Saúde**, São Paulo, v. 6, n. 2, p. 34-39, 2014.
- ARNILLAS, E. A. P. **Obtenção e caracterização de formulação fitoterápica contendo tintura e extrato padronizados de *Arnica montana* L. e *Aesculus hippocastanum* L.** 2015. 135 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

ARNOSO, B. J. M.; COSTA, G. F.; SCHMIDT, B. Biodisponibilidade e classificação de compostos fenólicos. **Nutrição Brasil**, São Paulo, v.18, n.1, p. 39-48, 2019.

ARRUDA, A. O.; SOARES, L. A. L. Estabelecimento de perfil fitoquímico por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCD-AE) para avaliação da qualidade das cascas do caule de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz. **Anais CONIC**, Universidade Federal de Pernambuco, Recife - PE, 2015.

ASSUNÇÃO, I. L. M. **Desenvolvimento e avaliação *in vitro* de uma formulação semissólida com atividade antimicrobiana a partir do extrato seco de *Schinopsis brasiliensis* Engler**. 2017. 82 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 855 p.

AZEVEDO, L. F. P. *et al.* Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) Sw. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 16, p. 209-215, 2014.

BADKE, M. R. *et al.* Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Escola Anna Nery Revista de Enfermagem**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, p. 132-139, 2011.

BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, Rio de Janeiro, v. 72, n. 3, p. 400-406, 2006.

BANNACH, G. *et al.* Thermal stability and thermal decomposition of sucralose. **Eclética Química**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 21 - 26, 2009.

BARREIRO, J. E.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: Fonte Potencial para a Descoberta de Fármacos, **Química Nova**, São Paulo v. 26, n. 3, p. 679-688, 2009.

BFG (The Brazil Flora Group). Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, p. 1085-1113, 2015.

BORELLA, J. C. *et al.* Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonoides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 31, n. 2, 2010.

BORGHETTI, G. S.; KNORST, M. T. Desenvolvimento e avaliação da estabilidade física de loções O/A contendo filtros solares. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 531-537, 2006.

BOSS, E. A. **Modelagem e otimização do processo de liofilização: aplicação para leite desnatado e café solúvel**. 2004. 129 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, 2004.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília: Anvisa, 2019a. v. 1, 874 f.

BRASIL. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira**. Brasília: Anvisa, 2011. 126p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 318, de 6 de novembro de 2019. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, ed. 216, p. 97, 2019b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 79, de 4 de novembro de 2008. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, Listas de Substâncias Entorpecentes, Psicotrópicas, Precursoras e outras sob Controle Especial, da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 215, 2008.

BRASIL. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade. **Diário Oficial da União**, Brasília: seção: 1, Brasília, DF, p. 1, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria nº 344, de 12 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. **Diário Oficial da União**, seção 1, Brasília, DF, 1998.

BRAZ, R. *et al.* Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, São Paulo, v. 22, n. 5, 2012.

BRESCIANI, L. *et al.* Absorption profile of (poly) phenolic compounds after consumption of three food supplements containing 36 different fruits, vegetables, and berries. **Nutrients**, Switzerland, v. 9, n. 3, p. 194, 2017.

BRITTO, M. R. S. **Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para o controle de qualidade da droga vegetal e produtos derivados de *Symphytum officinale* L. (Confrei)**. 2017. 73 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

BRUNTON, L. L.; CHABNER, B. A.; KNOLLMAN, B. C. **As bases farmacológicas da terapêutica de Goodman e Gilman**. 12. ed. [S.L.]: Mcgraw Hill, 2012. 2112 p.

CALIXTO, J. B. The role of natural products in modern drug discovery. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 91, Suppl. 3, 2019.

CAMPOS, A. A. G.; MORE, L. F.; ARRUDA, S. S. **Protocolo de cuidados de feridas**: Secretaria Municipal de Saúde. Vigilância em Saúde. Florianópolis: IOESC, 2007. 80 p.

CASSIANO, T. T. M. **Estudo fitoquímico preliminar e triagem citotóxica do extrato etanólico bruto das folhas de *Varronia globosa* Jacq. (BORAGINACEAE sensu lato)**. 2017. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2017.

CASTEJON, F. V. **Taninos e saponinas**. Seminário apresentado junto à disciplina Seminários Aplicados do Programa de Pós-Graduação–Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011. Disponível em: http://ppgca.evz.ufg.br/up/67/o/semi2011_Fernanda_Castejon_1c.pdf. Acesso em: 23 jun. 2019.

CASTRO, G. L. R. **Controle de qualidade de cápsulas de *Morus nigra* L.** 2018. 43 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia, Brasília, 2018.

CASTRO, J.; RIVERA, D.; FRANCO, L. A. Topical anti-inflammatory activity in TPA-induced mouse ear edema model and in vitro antibacterial properties of *Cordia alba* flowers. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, Republic of Korea, v. 49, n. 1, 2020.

CASTRO, M. S. **Estudo da aceitabilidade de um veículo para preparações líquidas orais manipuladas na forma de solução autoemulsionante: Experiência Profissionalizante na vertente de Farmácia Comunitária e Investigação.** 2017. 113 f. Relatório de Estágio (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal, 2017.

CAVAGNARI, B. M. Non-caloric sweeteners: specific characteristics and safety assessment. **Archivos Argentinos de Pediatría**, Buenos Aires, v. 117, n. 1, 2019.

CECHINEL, F.; V.; YUNES, R.A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. Conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, Santa Catarina, v.21, n.1, p.99-105, 1998.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug - excipient compatibility screening - Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Oxford, v. 87, p. 82–97, 2014.

CHALMERS, J. N.; SHINTON, N. K. Effect of D-sorbitol on the absorption of orally administered vitamin B12. **Nature**, London, v. 183, p. 120–121, 1959.

CHOW, B. F. et al. Studies on the Absorption of Vitamin B₁₂ in Human Pregnancy with Especial Reference to the Effect of D-Sorbitol. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v. 76, p. 91–95, 1958.

CLÍNICA OLFAC. **Gustação e o papel do Sistema Nervoso Central no reconhecimento do sabor.** 2020. Disponível em: <https://clinicaolfact.com.br/olfact/gustacao-e-o-papel-do-sistema-nervoso-central-no-reconhecimento-do-sabor.html>. Acesso em: 15 ago. 2020.

COELHO-FERREIRA, M. Medicinal knowledge and plant utilization in an Amazonian coastal community of Marudá, Pará State (Brazil). **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 126, p. 159–175, 2009.

COLUCCI, D.; MANIACI, R.; FISSORE, D. Monitoring of the freezing stage in a freeze-drying process using IR thermography. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 566, p. 488–49, 2019.

- CORDEIRO, L. B. A. **Desenvolvimento farmacotécnico e estudo de estabilidade de emulsões à base de óleo de semente de maracujá para prevenção de feridas.** 2012. 218 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Aplicadas a Produtos para Saúde, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2012.
- CORDEIRO, M. S. F. *et al.* Desenvolvimento tecnológico e avaliação de estabilidade de gel dermatológico a partir do óleo essencial de gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe). **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 2, p. 148-153, 2013.
- CORRÊA, N. M. *et al.* Avaliação do comportamento reológico de diferentes geis hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v.41, n.1, p.73-78, 2005.
- COSTA, I. M. **Estudo de pré-formulação com o composto polifenólico quercetina.** 2005. 198 f. Dissertação (Mestrado Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- COSTA, L. M. **Desenvolvimento de produto seco por aspersão obtido a partir das cascas do caule de *Libidibia ferrea* Martius Var. *Ferrea* (Fabaceae).** 2012. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2012.
- COSTA, R. S. **Estudos de Pré-Formulação e formulação de *Heliotropium indicum* (L.) DC (Boraginaceae).** 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Instituto de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2010.
- COUTO, R. O. *et al.* Development of a phytopharmaceutical intermediate product via *spray drying*. **Drying Technology**, Canada, v. 29, n. 6, p. 709-718, 2011.
- CUNHA, A. P. **Farmacognosia e fitoquímica.** Lisboa: Editora Fundação Calouste Gulbenkian, 2006. 670 p.
- CZEPULA, A. I. S. **Desenvolvimento de preparações semi-sólidas contendo extrato de *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski (*Acmela brasiliensis*, *Wedelia paludosa*) (Asteraceae) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica *in vivo*.** 2006. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Mestrado Acadêmico em Ciências Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2006.
- D'OTTAVIANO, E. J. Sistema nervoso e 3ª idade: 2ª parte. **Revista das Faculdades de Educação, Ciências e Letras e Psicologia Padre Anchieta**, São Paulo, v. 3, n. 5, p. 19, 2001.
- DANTAS, C. A. G. **Investigação fitoquímica e avaliação do potencial tóxico e anti-inflamatório de *Varronia globosa* Jacq. (BORAGINACEAE).** 2015. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

DARROZ, J. V. *et al.* Utilização de fitoterápicos no tratamento de constipação intestinal. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, Umuarama, v. 18, n. 2, 2015.

DASH, R. P.; SRINIVAS, N. R.; BABU, R. J. Use of sorbitol as pharmaceutical excipient in the present day formulations – issues and challenges for drug absorption and bioavailability. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, New York, v. 45, n. 9, p. 1421–1429, 2019.

DI GIUSEPPE, E. *et al.* Characterization of Carbopol® hydrogel rheology for experimental tectonics and geodynamics. **Tectonophysics**, Netherlands, v. 642, p. 29-45, 2015.

DUARTE, M. L. **Bioequivalência tópica após dose múltipla de produtos contendo metronidazol através da dermatofarmacocinética (DPK)**. 2017. 89 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to the sugar replacers xylitol, sorbitol, mannitol, maltitol, lactitol, isomalt, erythritol, D-tagatose, isomaltulose, sucralose and polydextrose and maintenance of tooth mineralisation by decreasing tooth demineralisation (ID 463, 464, 563, 618, 647, 1182, 1591, 2907, 2921, 4300), and reduction of post-prandial glycaemic responses (ID 617, 619, 669, 1590, 1762, 2903, 2908, 2920) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. **EFSA Journal**, United Kingdom, v. 9, n. 4, p. 2076, 2011.

FERNANDES, M. R. V. **Padronização e avaliação biológica de extratos secos de *Psidium guajava* L. obtidos por spray drying**. 2013. 259 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

FERNANDEZ-GARCIA, J. C. *et al.* An increase in visceral fat is associated with a decrease in the taste and olfactory capacity. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 2, 2017.

FERREIRA, A. I. P. **Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária. Suplementos Alimentares para a pele**. Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2017. 48 f.

FERREIRA, A. O. **Guia da farmácia magistral**. Juiz de Fora: Pharmabooks, 2000.

FERREIRA, A. S. **Obtenção de filmes mucoadesivos à base de *Thuja occidentalis* Linn como alternativa ao tratamento da candidíase oral**. 2020. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.

FERREIRA, P. A. *et al.* Characterization and standardization of the herbal drug *Baccharis trimera* (Less.) DC and its lyophilized extract. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, India, v. 5, n. 12, p. 5191-5200, 2014.

FIGUEIREDO, C. B. M. **Prospecção, Caracterização e desenvolvimento de método analítico para *Thuja occidentalis* Linn (Cupressaceae)**. 2014. 152 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014. 152 f.

FOLDVARI, M. Non-invasive administration of drugs through the skin: challenges in delivery system design. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, Netherlands, v. 3, n. 12, p. 417- 425, 2000.

FRANÇA, E.; VASCONCELLOS, A. G. Patentes de fitoterápicos no Brasil: uma análise do andamento dos pedidos no período de 1995-2017. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 35, n. 3, p. 329-359, 2018.

FRANCO, A. L. A. L. **Correlação dos sentidos do olfato e paladar entre si e com comportamentos sociais**. 2018. 24 f. Trabalho (Mestrado integrado em Medicina) - Faculdade de Medicina de Lisboa, Lisboa, 2018.

FRANSWAY, A. F. *et al.* Parabens. **Dermatitis**, Hamilton, v. 30, n. 1, 2019.

FREEPIK. **Língua realista com áreas básicas de gosto**. Disponível em: https://br.freepik.com/vetores-premium/lingua-realista-com-areas-de-gosto-basicas_6962608.htm. Acesso em: 16 ago. 2020.

FURTADO, A. A. *et al.* Aqueous extract from *Ipomoea asarifolia* (Convolvulaceae) leaves and its phenolic compounds have anti-inflammatory activity in murine models of edema, peritonitis and air-pouch inflammation. **Journal of Ethnopharmacology**, Limerick, v. 192, p. 225–235, 2016.

GALVÃO, M. A. M. **Estabelecimento de métodos por UV/VIS para o controle de qualidade das cascas e frutos de *Libidia ferrea* (Mart. ExTul.) LP Queiroz**. 2015. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

GANGWAR, S. S. *et al.* HPTLC finger printing analysis of the tannins from *Ailanthus excelsa* (Roxb.) leaves. **World Journal of Pharmaceutical Research**, Bulgaria, v. 8, n. 2, p. 1023-1029, 2019.

GHARIB, A.; GODARZEE, M. Determination of secondary metabolites and antioxidant activity of some Boraginaceae species growing in Iran. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, Nigeria, v. 15, n. 11, p. 2459-2465, 2016.

GIL, E. S. **Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010. 511 p.

GILBERT, B.; FAVORETO, R. *Cordia verbenacea* DC Boraginaceae. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 01, p. 1-9, 2013.

GOEBEL, K. **Estudo de liberação in vitro do Diclofenaco dietilamônio em especialidades farmacêuticas**. 2012. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

GOMES, J. G. C. C. **Estudos de pré-formulação e desenvolvimento de preparações cosméticas**. 2011. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia-

Bioquímica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2011.

GONÇALVES, L. A. A. **Alergias a alimentos ou a derivados usados como excipientes em medicamentos**. 2016. 64 f. Projeto de Pós-Graduação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Fernando Pessoa, Faculdade de Ciências da Saúde, Porto, 2016.

GRAÇAS, M. *et al.* Volatiles of the *Cordia multispicata* Cham.: a weed medicinal Brazilian plant. **Journal of Essential Oil Research**, Italy, v. 22, n. 6, p. 543-545, 2010.

GROTZ, V. L. *et al.* A 12-week randomized clinical trial investigating the potential for sucralose to affect glucose homeostasis. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, New York, v. 88, p. 22-33, 2017.

GUIMARÃES, G. P. **Caracterização tecnológica de drogas vegetais e extratos nebulizados e desenvolvimento de um fitocosmético fotoprotetor**. 2018. 169 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 13. ed. São Paulo: Elsevier, 2017.

HATWARE, K. V. *et al.* Evidence for gastroprotective, anti-inflammatory and antioxidant potential of methanolic extract of *Cordia dichotoma* leaves on indomethacin and stress induced gastric lesions in Wistar rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 103, p. 317–325, 2018.

HUANG, X. *et al.* A novel foam vehicle for delivery of topical corticosteroids. **Journal of the American Academy of Dermatology**, St. Louis, v. 53, n. 1, 2005.

HUBRECHT, R.; KIRKWOOD, J. The UFAW handbook on the care and management of laboratory and other research animals. 8ed. **Universities Federation for Animal Welfare – UFAW**, p. 311–326, 2010.

HUEZA, I. M. Farmacologia das aves: o uso de medicamentos anti-inflamatórios em aves silvestres. **ARS veterinária**, Jaboticabal, SP, v. 4, n. 1, p.15-24, 2008.

IPEL. **Itibanyl Produtos Especiais LTDA**. Disponível em: <http://ipel.com.br/produtos/cosmeticos/>. Acesso em: 01 ago. 2020.

KAZAK, F.; YARIM, G. F. Neuroprotective effects of acetyl-l-carnitine on lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in mice: Involvement of brain-derived neurotrophic factor. **Neuroscience Letters**, Amsterdam, v. 658, p. 32–36, 2017.

KOFFI, E. N. *et al.* Effect of freeze-drying and spray-drying on total phenolics content and antioxidant activity from aqueous extract of *Justicia secunda* leaves. **Trends in Phytochemical Research**, Iran, v. 4, n. 2, p. 69-76, 2020.

KOSTER, R.; ANDERSON, M.; DEBEER, E. J. M. Aceticacid for analgesic screening. **Federation proceedings**, Bethesda, v. 18. p. 412-421, 1959.

KUROYANAGI, M. *et al.* Anti-androgenic triterpenoids from the Brazilian medicinal plant, *Cordia multispicata*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 49, n. 8, p. 954-957, 2001.

KUROYANAGI, M. *et al.* Dammarane-type triterpenes from the Brazilian medicinal plant *Cordia multispicata*. **Journal of Natural Products**, Cincinnati, v. 66, n. 10, p. 1307-1312, 2003.

LAHOUD, M. H.; CAMPOS, R. Aspectos teóricos relacionados à reologia farmacêutica. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v.11, n.1, 2010.

LAM, J. K. W. *et al.* Oral transmucosal drug delivery for pediatric use. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 73, p. 50–62, 2014.

LEITE, J. P. V. **Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas**. São Paulo: Editora Atheneu, 2009. 328 p.

LEITE, R. S. **Estudos tecnológicos aplicados à padronização de extratos secos de *Myracrodruon urundeuva* Allemão**. 2017. 110 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2017.

LEMOS, E. L. **Análise físico-química e fitoquímica do extrato etanólico bruto das raízes de *Harrisia adscendens* (Gürke) Britton & Rose (CACTACEAE)**. 2015. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia)- Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

LEONARDI, G. R.; GASPAR, L. R., CAMPOS, P. M. B. G. M. Estudo da variação do pH da pele humana exposta à formulação cosmética acrescida ou não das vitaminas A, E ou de ceramida, por metodologia não invasiva. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 5, p. 563-569, 2002.

LEONARDI, G. R.; MARTINS, L. G.; KUREBAYASHI, M. **Cosmetologia aplicada**. São Paulo: Medfarma, 2004.

LIBÓRIO, J. F. A. **Caracterização físico-química do extrato seco das sementes de *Myrciaria dubia* (Kunth) Mcvaugh e desenvolvimento de formulação semissólida**. 2016. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2016. 110 f.

LIMA, M. J. S. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas à base do extrato aquoso da casca do caule de *Libidibia ferrea* (Mart. ExTul) como alternativa no tratamento do *Diabetes mellitus***. 2019. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019. 75 f.

LIMA, M. S. F. **Desenvolvimento de uma formulação cosmética contendo ativos naturais para o tratamento de melasma**. 2017. 12 f. Artigo de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, UNICESUMAR, Maringá, 2017.

LIU, F. Formulation factors affecting acceptability of oral medicines in children. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 492, n. 1–2, p. 341–343, 2015.

LOPES NETO, J. J. **Bioacessibilidade e biodisponibilidade de compostos fenólicos de sementes de *Triplaris gardneriana* Wedd (Polygonaceae)**. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

LOPES, K. S. **Avaliação da toxicidade oral aguda, atividades antinociceptiva e anti-inflamatória, e composição química do extrato seco de *Varronia multispicata* (Cordiaceae)**. 2017. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

LOPES, K. S. *et al.* Chemical Composition, Toxicity, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Activity of Dry Aqueous Extract of *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi (Cordiaceae) Leaves. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 10, n. 1376, 2019.

MACEDO, J. M. *et al.* Variação sazonal nos teores de flavonoides, taninos e atividade antioxidante de *Davilla rugosa* Poir. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Araraquara, v. 34, n. 4, p. 585-590, 2014.

MACÊDO, S. K. L. *et al.* Caracterização farmacognóstica, térmica e morfológica das cascas e folhas de *Triplaris gardneriana* Weed. **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v. 6, n. 3, p. 11904-11915, 2020.

MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 36, n. 8, p. 1248-1255, 2013.

MELLO, J. C. P. *et al.* Estudo farmacognóstico de flores de *Tagetes pátula* L. (Asteraceae). **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 4, p. 225-230, 2013.

MELO, C. A. S.; DOMINGUES, R. J. S.; LIMA, A. B. **Elaboração de géis e análise de estabilidade de medicamentos**. Belém: Editora da Universidade do Estado do Pará (EDUEPA), 2018. 53 p.

MELO, J. I. M.; VIEIRA, D. D. Flora da Reserva Biológica Guaribas, PB, Brasil: Boraginaceae. **Hoehnea**, São Paulo, v. 44, n. 3, p. 407-414, 2017.

MELO, M. O.; CAMPOS, P. M. B. G. M. Função de Barreira da pele e pH cutâneo. **Cosmetics & Toiletries**, Carol Stream, v. 28, 2016.

MENDONÇA, C. M. S. *et al.* Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, Dordrecht, v. 115, p. 2277–2285, 2013.

MILAN, A. L. K. *et al.* Estudo da hidratação da pele por emulsões cosméticas para xerose e sua estabilidade por reologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 4, 2007.

MOURA, D. C.; MELO, J. I. M.; SCHLINDWEIN, C. Visitantes Florais de Boraginaceae A. Juss. no Baixo Curso do Rio São Francisco: Alagoas e Sergipe. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 285-287, 2007.

MOURÃO, D. M. *et al.* Biodisponibilidade de vitaminas lipossolúveis. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 529-39, 2005.

NAIR, A. B.; JACOB, S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. **Journal of Basic Clinical Pharmacy**, v. 7, n. 2, p. 27–31, 2016.

NAKAMA, K. A. *et al.* Organoleptic excipients used in pediatric antibiotics. **Archives de Pédiatrie**, Paris, v. 26, n. 7, p. 431-436, 2019.

NASCIMENTO, G. F.; DUTRA, J. V. **Determinação de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante de extratos dos vegetais: unha de gato (*Uncaria tomentosa*); indiano oli-banum (*Boswellia serrata*); gymnema (*Gymnema sylvestre*) e alcachofra (*Cynara scolymus*).** 2019. 23 f. Relatório final (Iniciação Científica) - Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa, Centro Universitário de Brasília, Brasília, 2019. 23 f.

NASCIMENTO, P. M. S. **Efeito do extrato aquoso liofilizado das folhas de *Passiflora alata* Curtis e seus polifenóis catequina e rutina na indução do estresse oxidativo em linfócitos de camundongos NOD Shilt/J submetidos à cultura mista com células MIN6.** 2019. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas) - Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

NERY, B. **Por Que as Crianças Têm Tantas Doenças na Pele?**. Portal Ped. 2017. Disponível em: <https://www.portaldped.com.br/sem-categoria/descricao-das-lesoes-elementares-da-pele-uma-dificuldade-do-dia-a-dia-do-pediatra/>. Acesso em: 15 ago. 2020.

NICHOLS, J. A; KATIYAR, S. K. Skin photoprotection by natural polyphenols: Anti-inflammatory, anti-oxidant and DNA repair mechanisms. **Archives of Dermatological Research**, Berlin, v. 302, n. 2, p. 71, 2010.

OLIVEIRA, D. D. J. *et al.* Quality control of creams based on hydroquinone purchased on compounding pharmacies: a comparative analysis. **Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research**, v. 29, n.1, p. 7-13, 2019b.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Quimica Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OLIVEIRA, G. G. **Reologia de fluidos não newtonianos à base de carboximetilcelulose (CMC).** 2018. 52 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.

OLIVEIRA, L. R. *et al.* Avaliação dos edulcorantes presentes em produtos diet. **Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo, v. 13, n. 80, p.498-507, 2019a.

OLIVEIRA, M.; GRILLO, A.; TABARELLI, M. **Caracterização da flora dos remanescentes da usina Serra Grande, Alagoas**. Centro de Pesquisas Ambientais do Nordeste – CEPAN, Recife, 2004. 31 p.

OLIVEIRA, N. F. **Isolamento dos constituintes do tegumento da castanha de caju (TCC) e avaliação do seu potencial como antioxidante natural**. 2016. 106 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2016.

OZA, M. J.; KULKARNI, Y. A. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of the medicinal species of the genus *Cordia* (Boraginaceae). **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, London, v. 69, p. 755–789, 2017.

OZDAL, T.; SELA, D. A.; XIAO, J.; BOYACIOGLU, D; CHEN, F.; CAPANOGLU, E. The Reciprocal interactions between polyphenols and gut microbiota and effects on bioaccessibility. **Nutrients**, Switzerland, v. 8, n. 2, p. 78, 2016.

PAULA, B. F. **Estudo farmacognóstico e avaliação das atividades anti-inflamatória e analgésica das folhas do nabo forrageiro (*Raphanus sativus* L. var.oleifera Metzg.)**. 2014. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2014.

PEIXOTO, L. R. **Estudo fitoquímico e biológico da *Tacinga palmadora* (Britton & Rose) N.P. Taylor & Stuppy (Cactaceae)**. 2018. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB, 2018. 135 f.

PEREIRA, J. A. S. ***Cordia verbenacea* DC: perfil morfo-anatômico, histoquímico, farmacognóstico e avaliação da atividade anti-candida do extrato hidroetanólico e suas frações**. 2013. 52 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Araraquara, 2013.

PESSANHA, A. F. V. **Desenvolvimento de formas farmacêuticas semi-sólidas à base de óleo de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) com ação cicatrizante para tratamento e prevenção de úlceras de pressão**. 2011. 66 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

PUDZIUVELYTE, L. *et al.* *Elsholtzia ciliata* (Thunb.) Hyl. Extracts from different plant parts: Phenolic Composition, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities. **Molecules**, Basel, v. 25, p. 1153, 2020.

QUEIROZ, M. B. R. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de gel com extrato de *Matricaria recutita* (L.) e avaliação da atividade antiinflamatória tópica comparada com gel de diclofenaco sódico**. 2008. 121 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

QUERINO, E. T. S.; SILVA, R. P. **Análise dos riscos à saúde, dos parabenos em cosméticos**. 2018. 14 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciência e Tecnologia) - Universidade Federal Rural do Semiárido, Rio Grande do Norte, 2018.

RANG, H. P.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J.; HENDERSON, G. **Rang & Dale: Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

RECHIA, L. M. **Desenvolvimento e avaliação da estabilidade de gel a base de extrato de *Melissa officinalis* L.** 2010. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

REZENDE, B. A. *et al.* Avaliação clínica da língua em adultos jovens. **Revista CEFAC**, São Paulo, v. 18, n.3, p. 559-567, 2016.

RIBEIRO, S. M.; BONILLA, O. H.; LUCENA, E. M. P. Influência da sazonalidade e do ciclo circadiano no rendimento e composição química dos óleos essenciais de *Croton*spp. da Caatinga. **Iheringia. Série Botânica**, Porto Alegre, v. 73, n. 1, p. 31-38, 2018.

ROCHA, M. D. Intervenções farmacêuticas em medicamentos prescritos para administração via sondas enterais em hospital universitário. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, Ribeirão Preto, v. 24, n. 2696, 2016.

RODRIGUES, F. V. Fisiologia sensorial. **Revista da Biologia**, Lisboa, v. 5, 2010.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. USA: Pharmaceutical Press, 2009. 917 p.

SALVIO NETO, H. **Estudo de compatibilidade fármaco/excipiente e de estabilidade do prednicarbato por meio de técnicas termoanalíticas, e encapsulação do fármaco em sílica mesoporosa do tipo SBA-15**. 2020. 205 f. Tese (Doutorado em Fármaco e Medicamentos) - Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

SANDINI, T. M. *et al.* Avaliação farmacognóstica de *Phyllanthus tenellus* Roxb., Euphorbiaceae (Quebra-Pedra) coletadas em Rancho Alegre D'Oeste, Paraná. **Biosaúde**, Paraná, v. 13, n. 1/2, p. 1-11, 2011.

SANTI, M. M. *et al.* Determinação do perfil fitoquímico de extrato com atividade antioxidante da espécie medicinal *Cordia verbenacea* DC. por HPLC-DAD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.16, n.2, p.256-261, 2014.

SANTOS, D. S.; RODRIGUES, M. M. F. Atividades farmacológicas dos flavonoides: um estudo de revisão. **Estação Científica (UNIFAP)**, Macapá, v. 7, n. 3, p. 29-35, 2017.

SANTOS, G. L. D. **Estudo fitoquímico, caracterização físico-química e avaliação da atividade antimicrobiana de *Harrisia adscendens* (GÜRKE) Britton & Rose (Cactaceae)**. 2015. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, 2015.

SANTOS, H. B. **Influência da sazonalidade nos perfis quali e quantitativo de polifenóis das cascas e folhas de *Libidibia ferrea* (Mart. exTul.) LP Queiroz (Jucá)**. 2016. 86 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SBFgnosia. SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Metodologia do teste de espuma**. 2009. Disponível em: <http://www.sbfgnosia.org.br/Ensino/saponinas.html>. Acesso em: 22 jun. 2019.

SENGUPTA, A.; PAI, G. K.; TIPPAVAJHALA, V. K. A review on the physico-chemical properties of solvent influencing the solubility of drugs. **Journal of Global Pharma Technology**, India, v. 8, n. 9, p. 22-31, 2017.

SILVA, A. K. O. **Estudo químico de espécies de *Cordia* (Boraginaceae): *Cordia multispicata* (Cham.) e *Cordia globosa* (Jacq.)**. 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

SILVA, C. C. A. R. *et al.* **Farmácia Clínica e Atenção Farmacêutica**. Capítulo 15: Polissacarídeos como fonte de novos recursos terapêuticos para o fortalecimento do sistema imunológico. Ponta Grossa: Atena Editora, p. 149-164, 2019.

SILVA, C. C. A. R. **Obtenção de forma farmacêutica sólida (comprimido) à base de *Syzygium cumini* (L.) Skeels como alternativa terapêutica para o tratamento de infecções causadas por microrganismos**. 2019. 157 f. Tese (Doutorado em Inovação Terapêutica) - Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019b.

SILVA, F. C.; RIBEIRO, A. B.; RIBEIRO, P. R. S. Evaluation quality of medicinal plants traded in the city of Imperatriz, Maranhão. **Scientia Plena**, Sergipe, v. 13, n. 2, 2017.

SILVA, J. A. *et al.* Estudo de liberação e permeação *in vitro* do diclofenaco de dietilamônio em microemulsão gel-like. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p. 1389–1393, 2009.

SILVA, J. G. **Reologia e microestrutura na estabilização de suspensões concentradas de Al_2O_3** . 2003. 134 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Materiais) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Materiais, Rede Temática em Engenharia de Materiais, UFOP - CETEC – UEMG, Belo Horizonte, 2003.

SILVA, J. R.; GOMES, C. D.; VELOSO, C. M.; SANTOS, J. A. Comparação da estabilidade da dipirona sódica solução oral em frasco de vidro e polietileno. **Ensaio e Ciência: Ciências agrárias, biológicas e da saúde**, São Paulo, v. 15, n. 6, p. 63-83, 2011.

SILVA, N. G. **Secagem em leito de espuma e liofilização de extrato aquoso de mamão papaia (*Carica papaya* L.): avaliação físico-química e estabilidade dos produtos obtidos**. 2018. 98 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2018.

SILVA, P. C. D. **Estudo de desenvolvimento de comprimidos de liberação imediata em associação dose fixa para o tratamento de filaríose.** 2019. 249 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019a.

SILVA, P. D C. **Desenvolvimento e validação do método analítico dos produtos intermediários e estudo de estabilidade preliminar de gel de *Thuja occidentalis* Linn. (Cupressaceae) para terapia antiviral.** 2016. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SILVA, T. B. C. *et al.* Determination of the phenolic content and antioxidant potential of crude extracts and isolated compounds from leaves of *Cordia multispicata* and *Tournefortia bicolor*. **Pharmaceutical Biology**, Lisse, v. 48, n. 1, p. 63–69, 2010.

SILVA, T. C.; TORRES, V. M. Desenvolvimento e estudo de estabilidade acelerada de um fitocosmético contendo o óleo essencial de *Cordia verbenacea* (erva-baleeira). **Revista Brasileira de Educação e Saúde**, Pombal, v. 9, n.4, p. 127-133, 2019.

SINGLETON, V. L. *et al.* Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology at Science**, v. 299, p. 152-78, 1999.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC Method Development.** 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. 765 p.

SOARES, K. C. C. **O Registro de medicamentos tópicos no Brasil.** 2017. 120 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

SODRÉ, D. F. **Estudo fitoquímico e avaliação da atividade biológica de *Varronia multispicata* (Cham) Borhidi.** 2013. Projeto (Iniciação Científica, Pibic) - Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará, Belém, 2013.

SOLIGNAC, M. Assessment of a topical NSAIDs in the treatment of pain and inflammation. The example of Flector Plaster, a local bioadhesive plaster containing diclofenac e polamine. **Presse Medicale**, Paris, v. 33, n. 2, p.3-10, 2009.

SOUZA, B. S. **Desenvolvimento e estudo da estabilidade de creme hidratante à base de azeite de dendê (*Elaeis guineensis*).** 2019. 84 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Farmácia) - Faculdade Maria Milza, Governador Mangabeira, Bahia, 2019.

SOUZA, C. C. *et al.* Desenvolvimento e caracterização de formulação tópica de extrato de uvarana para tratamento de feridas. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiania, v. 8, n. 3, p. 191-200, 2016.

STANKOVIC, M. S. *et al.* Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts. **Kragujevac Journal of Science**, Serbia, v. 33, n. 2011, p. 63-72, 2011.

TAKEUCHI, K. *et al.* Roles of COX inhibition in pathogenesis of NSAID-induced small intestinal damage. **Clinica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 411, p. 459–466, 2010.

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

TOPAN, J. F. **Emulsões à base de óleo de girassol (*Helianthus annus L.*) com cristal líquido: avaliação das propriedades físico-químicas e atividade cosmética**. 2012. 94 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto - SP, 2012.

TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Corpo Humano: Fundamentos de Anatomia e Fisiologia**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

UEDA, C.T. *et al.* Topical and Transdermal Drug Products. The United States Pharmacopeial Convention, Inc. **Pharmacopeial Forum**, São Paulo, v.35, p.750-764, 2009.

VALLE, I. V. **Métodos *in vitro* e *in vivo* para a análise sensorial de medicamentos**. 2017. 50 f. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Rio de Janeiro, 2017.

VASCONCELOS, E. A. F. *et al.* Influência do Processo Extrativo, Solvente e Tamanho da Partícula do Material Vegetal no Teor de Sólidos Totais da Solução Extrativa da *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Revista Fitos**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, 2005.

VAZ, M. M. **Desenvolvimento de métodos por HPLC para isolamento de Flavonoides e Avaliação da atividade antibacteriana e analgésica de *Varronia multispicata* (Cham) Borhidi**. 2015. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Universidade Federal do Pará, Belém, 2015.

VEIGA, V. F. J.; PINTO, A.C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura?. **Química Nova**, Rio de Janeiro, v. 28, n. 3, p.519-528, 2005.

VERAS, K. S. *et al.* Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Riyadh, v. 27, p. 1138–1145, 2019.

VIEIRA, I.C.G., UHL, C.; NEPSTAD, D.C. The role of the shrub *Cordia multispicata* Cham. as a “succession facilitator” in an abandoned pasture Paragominas, Amazônia. **Vegetatio**, v. 115, n. 2, p. 91-99, 1994.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. [S.l.]: Springer Science & Business Media, 1996.

WALSH, J. *et al.* Playing hide and seek with poorly tasting paediatric medicines: do not forget the excipients. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Amsterdam, v. 73, p. 14–33, 2014.

WATANABE, M. T. C.; HIURA, A. L.; CARDOSO, M. G. N. Flora das cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Cordiaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 68, n.3, p. 955-960, 2017.

WHO. **Global report on traditional and complementary medicine 2019**. World Health Organization, 2019. 228 p.

XAVIER E CASTRO, J. C. S. *et al.* Adequação às faixas etárias pediátricas de medicamentos novos registrados no Brasil de 2003 a 2013. **Einstein**, São Paulo, v.16, n. 4, p. 1-8, 2018.

YAO, W. *et al.* Effects of amygenone on serum levels of tumor necrosis factor- α , interleukin-10, and depression-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, Phoenix, v. 136, p. 7–12, 2015.

YISMAW, Y. E. *et al.* Phytochemical and Antiulcer Activity Screening of Seed Extract of *Cordia africana* Lam (Boraginaceae) in Pyloric Ligated Rats. **Clinical Pharmacology: Advances and Applications**, v. 12 p. 67–73, 2020.

ZEMPLIN, W. **Princípios de anatomia e fisiologia em Fonoaudiologia**. 4. ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000.

ZHANG, F. *et al.* Fluoxetine protects neurons against microglial activation-mediated neurotoxicity. **Parkinsonism & Related Disorders**, Kidlington, v. 18, p. S213–S217, 2011.

ZHONG, C. *et al.* Phenolic Compounds from the Rhizomes of *Smilax china* L. and Their Anti-Inflammatory Activity. **Molecules**, Basel, v. 22, p. 515, 2017.

ZHU, L. *et al.* Regulation of ubiquitin-specific processing protease 8 suppresses neuroinflammation. **Molecular and Cellular Neuroscience**, San Diego, v. 64, p. 74–83, 2015.

APÊNDICE A - MODELO DE PAINEL SENSORIAL HUMANO**MODELO DE PAINEL SENSORIAL HUMANO**

Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos N° _____

O “Painel Sensorial Humano” consiste em uma técnica *in vivo* utilizada para a avaliação das reações produzidas e como elas são percebidas pelos órgãos da visão, olfato, paladar, tato e audição, quando o indivíduo é exposto a uma determinada amostra. Além permitir avaliar o nível de satisfação dos indivíduos, podendo ser aplicada em diversas situações, principalmente no desenvolvimento de novas formas farmacêuticas.

O presente teste tem como principal finalidade avaliar a percepção global do sabor de uma solução oral obtida, utilizando o extrato seco de uma espécie vegetal como princípio ativo, sendo analisada a percepção do sabor inicial e residual, além da textura das formulações.

Serão selecionados n° _____ voluntários para a realização do teste, os quais devem estar dentro dos critérios e inclusão e exclusão abaixo citados.

Foram manipulados n° _____ lotes de bancada (LB), cada um com 50 mL, da solução oral à base do extrato seco aquoso liofilizado de *Varronia multispicata*. Também foi manipulada uma solução oral placebo. Todas as amostras foram armazenadas em frascos conta gotas, de plástico, com tampa lacre, e identificados com códigos.

- **Critérios de inclusão:** Adultos saudáveis, do sexo masculino ou feminino, na faixa etária dos 20-40 anos.
- **Critérios de exclusão:** Indivíduos com doenças crônicas já diagnosticadas; indivíduos que fazem uso contínuo de medicação; indivíduos que tenham consumido bebida alcoólica nas últimas 48 horas; gestantes; usuários de cigarro; indivíduos que possuam alergia a qualquer tipo de substância; indivíduos que tenham a percepção prejudicada do paladar seja por doença já existente ou qualquer outro motivo que possa levar a modificação do paladar.
- **Riscos envolvidos:** Possibilidade de experiência desagradável de sabor.

INFORMAÇÕES SOBRE A SUBSTÂNCIA EM ANÁLISE

Varronia multispicata (sin. *Cordia multispicata*), espécie vegetal pertencente à família Boraginaceae, é uma planta medicinal típica de regiões do clima tropical e subtropical, amplamente distribuída e utilizada no Brasil, principalmente por sua ação expectorante e no tratamento de contusões. É uma espécie rica em compostos fenólicos, mas ainda não se tem dados totalmente conclusivos sobre o principal metabólito que justifique o efeito antinociceptivo e antiinflamatório do extrato aquoso liofilizado, no tratamento via oral, relatado em estudos anteriores. Contudo, por meio de estudos científicos, sabe-se que o mesmo apresenta perfil de baixa toxicidade, propondo-se, portanto o desenvolvimento tecnológico de uma forma farmacêutica líquida para incorporação desse extrato. Dessa forma, foi obtida uma solução oral contendo em sua composição um veículo, edulcorante, conservante e flavorizante, e sendo manipulada conforme todos os protocolos exigidos.

INSTRUÇÕES PARA O TESTE

- Os indivíduos não devem comer, beber ou mascar qualquer tipo de alimento durante ou, pelo menos, uma hora antes do teste;
- Os indivíduos devem conduzir, de forma padronizada, todas as etapas do teste:
- Agitar três vezes o frasco, antes do uso;
- Fazer a degustação de 20 gotas (equivalente a 1 mL) da solução oral;
- Realizar avaliação do sabor inicial (tópico 1 do questionário);
- Realizar avaliação da textura da formulação (tópico 2 do questionário);
- Após cinco minutos da administração, realizar avaliação do sabor residual (tópico 3 do questionário);
- Responder tópicos 4 e 5 do questionário.

QUESTIONÁRIO

Indivíduo n°: _____ LB analisado: _____

1- Como você classifica o SABOR INICIAL da solução degustada?

() Doce () Amargo () Salgado () Nenhum

2- Como você classifica a TEXTURA E A SENSACÃO NA BOCA após degustação da solução oral?

() Delicado () Grosso () Viscoso () Arenoso () Nenhuma

3- Como você classifica o SABOR/SENSACÃO RESIDUAL após solução degustada?

() Doce () Amargo () Salgado () Ácido () Adstringente () Frescor () Dormência

4- Em uma escala de 1 a 10, quanto à APARÊNCIA VISUAL E AROMA da solução oral degustada lhe é satisfatória? (Considerando que 1 refere-se a “insatisfação” e 10 a “muita satisfação”)

(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10)

5- Em uma escala de 1 a 10, quanto o SABOR da solução oral degustada lhe é agradável?

(Considerando que 1 refere-se a “desagradável” e 10 a “bastante agradável”)

(1) (2) (3) (4) (5) (6) (7) (8) (9) (10)

Referências utilizadas:

- ALLEN Jr., L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.
- AULTON, M. E.; TAYLOR, K. M. G. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 855 p.
- LOPES, K. *et al.* Chemical Composition, Toxicity, Antinociceptive, and Anti-Inflammatory Activity of Dry Aqueous Extract of *Varronia multispicata* (Cham.) Borhidi (Cordiaceae) Leaves. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 10, n. 1376, 2019.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. USA: Pharmaceutical Press, 2009. 917 p.
- VALLE, I. V. **Métodos *in vitro* e *in vivo* para a análise sensorial de medicamentos**. 2017. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas) - Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Rio de Janeiro, 2017. 50 f.