

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACEUTICAS

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE
FORMA FARMACEUTICA PLASTICA CONTENDO EXTRATO
CONCENTRADO DE *Achyrocline satureioides* (LAM.)
DC. COMPOSITAE (MARCELA)

Dissertação apresentada por
MIRIAM TERESINHA KNORST para
obtenção do grau acadêmico
de Mestre em Ciências Farma-
cêuticas.

Orientador: Prof. Dr. PEDRO ROS PETROVICK

PORTO ALEGRE, 1991

Dissertação apresentada e aprovada em 21 de novembro de 1991, perante Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Dr. José Hamilton Ferreira Bueno
Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

Profa. Dra. Valquíria Linck Bassani
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

K72d Knorst, Miriam Teresinha

Desenvolvimento tecnológico de forma farmacêutica plástica contendo extrato de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela) / Miriam T. Knorst. - 257p. : il., tab., graf.

Dissertação (mestrado). UFRGS: Faculdade de Farmácia.

1. Tecnologia farmacêutica. 2. Pomadas. 3. *Achyrocline satureioides*. 4. Marcela. 5. Fitoterápicos. I. Petrovick, Pedro Ros. II. Título.

CDU: 615.454.1

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Pedro Ros Petrovick pela orientação, pela amizade e pelo estímulo transmitido.

Ao Prof. George Gonzales Ortega pela amizade e incentivo em realizar este Curso.

Ao Prof. Dr. Eloir Paulo Schenkel pela presença amigável, estímulo e apoio demonstrados ao longo destes anos de convivência.

A Prof. Dr. Valquíria L. Bassani pela atenção e sugestões apresentadas.

A Prof. Lilian Auler Mentz pelos préstimos de seu vasto conhecimento botânico.

A Prof. Ana Maria Bergold pela atenção e pelo empréstimo de material bibliográfico.

Aos funcionários da biblioteca Maria Norma B. de Cesaro, Regina Nunes, Roberto Basso, Heloisa Canabarro, Maria Helena D. Candela e, especialmente às bibliotecárias Ivone Job Antunes e Margarida M.C. Fonseca pela localização de referências e orientação no ordenamento bibliográfico.

Aos bolsistas de iniciação científica e aperfeiçoamento do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, principalmente ao Airton M. da Silveira e à Sara M. Gallina pela amizade e auxílio

prestado em diferentes etapas do trabalho.

A Eng. Civil Odete Viero pelo desenho do aparelho de cedência e pelo auxílio na confecção gráfica.

Ao colega de Curso José Emílio L. Garske pelo auxílio na confecção da célula de cedência.

Ao Alexandre Amaro pela auxílio na determinação das equações de espalhabilidade.

A Secretária Marisa Gaspar pela datilografia dos trabalhos publicados.

Aos amigos Mara Lane Cardoso, Selma L. Franco, João Carlos P. de Mello e Diva Sonaglio pelo apoio e amizade.

Aos colegas de curso com os quais convivi de modo especial, ao Jarbas Montanha, Berta Heinzmann, Margareth L. Athayde e Silvia Guterres pela amizade, companheirismo e apoio demonstrados em diferentes momentos.

A amiga Suzana W. do Canto pelos anos de convivência.

Aos meus pais pela compreensão e apoio recebidos durante toda minha formação.

Ao CNPq e à PROPESP/UFRGS pela concessão de bolsas de estudo.

A todos que, mesmo não citados, não serão esquecidos pela colaboração na realização deste trabalho.

RESUMO

O desenvolvimento de fitoterápicos coloca em evidência a interligação de conhecimentos botânicos, fitoquímicos, farmacológicos e tecnológicos visando obter medicamentos com eficiência terapêutica e viabilidade industrial.

Desse modo, com base em pesquisas anteriores realizadas com a *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae, as quais relatam, entre outras, atividades antiviral e antiinflamatória tópica, foi desenvolvida forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado deste vegetal.

Foram desenvolvidas e adaptadas metodologias de avaliação da qualidade que fossem viáveis tanto para a matéria-prima vegetal quanto para os produtos intermediários e final.

Para a análise qualitativa a cromatografia em papel preencheu estes pré-requisitos. A determinação quantitativa foi efetuada através do doseamento de quercetina por cromatografia em papel associada a espectrofotometria no ultravioleta (CP/UV) e do doseamento de flavonóides totais.

A inviabilidade técnica de incorporação às bases monoestearato de glicerila e hidrofílica, do macerado hidroalcoólico a 7,5% (m/V) das sumidades floridas, conduziu a sua concentração e posterior tratamento com polissorbato 80.

A incorporação do extrato concentrado tratado causou

alterações nas características das bases verificadas através do índice de óleo, espalhabilidade e comportamento reológico.

Para a avaliação da liodisponibilidade de constituintes do extrato, foi desenvolvido dispositivo de liberação multicompartimental, dotado de membrana sintética, que propiciou resultados reprodutíveis, demonstrando sua adequabilidade em ensaios comparativos.

Estudo preliminar de estabilidade da pomada monoestearato de glicerila, efetuado pelo método da degradação térmica acelerada, detectou alterações nas suas características reológicas sem comprometimento do perfil cromatográfico, da concentração de quercetina e da liodisponibilidade.

Palavras-chave: *Achyrocline satureioides*, MARCELA, POMADAS, FITOTERAPICOS, DESENVOLVIMENTO GALENICO.

ABSTRACT

The development of phytotherapeutic drugs involves ethnopharmacological, botanical, phytochemical, pharmacological and technological knowledges. It aims the obtaintion of a therapeutical efficient and industrial viable product.

Based on prior researchs performed with *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae, which confirm its antiviral and antiinflammatory properties, it was developed a plastic pharmaceutical dosage form containing a concentrated extract of this plant.

The methods for the quality evaluation were choosen in order to improve its viability in the analysis of both plant raw material so as of intermediary and final products.

For the qualitative analysis, paper chromatography fulfilled these purpouses. The quantitative determination of quercetin throught paper chromatography associated to ultraviolet spectrophotometry so as the total flavonoids assay showed to be applicable in this study.

The technical problematic incorporation of an hydroalcoholic macerate at 7,5 % (w/v) of the floral summits to the glyceryl monostearate and hydrophilic bases led to its concentration and subsequent treatment with polysorbate 80.

The incorporation of the treated extract caused alteration in the oil index, spreading and rheological behavior of the ointment bases.

For the "in vitro" release studies a multicompartimental device with two chambers separated by a synthetic membrane was developed. The results showed reproducibility and adequacy in comparative assays.

Preliminary study of the stability under accelerated thermal conditions detected alteration in the rheological behavior, without modification of the chromatographic profile, of the concentration of quercetin and of the bioavailability of the glyceryl monostearate ointment.

Key words: *Achyrocline satureioides*, OINTMENT, PHYTOTHERAPICS, GALENIC DEVELOPMENT.

SUMARIO

	Página
RESUMO	V
ABSTRACT	VII
LISTA DE TABELAS	XVI
LISTA DE FIGURAS	XXII
LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS	XXVII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. RELEVANCIA DO TEMA E OBJETIVOS	1
1.2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2. PARTE EXPERIMENTAL	38
2.1. MATERIAIS	38
2.1.1. MATERIAS-PRIMAS	38
2.1.2. REAGENTES, SOLUÇÕES, SUBSTANCIAS-REFERENCIA E MEIOS DE CULTURA	39
2.1.3. APARELHOS E EQUIPAMENTOS	41
2.2. METODOLOGIA	43
2.2.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATERIA-PRIMA VEGETAL	43
2.2.1.1. Caracterização Botânica	43
2.2.1.2. Análise Cromatográfica	44
2.2.1.2.1. Preparação da Amostra	45

	Página
2.2.1.2.2. Cromatografia em Papel (CP)	45
2.2.1.2.3. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	46
2.2.1.3. Determinação da Perda por Dessecação	46
2.2.1.4. Determinação do Teor de Extrativos	46
2.2.1.5. Determinação do Teor de Oleo Volátil	47
2.2.1.6. Quantificação de Flavonóides Totais	48
2.2.2. PREPARAÇÃO DOS PRODUTOS INTERMEDIARIOS	49
2.2.2.1. Extrato Hidroalcoólico	49
2.2.2.1.1. Preparação	50
2.2.2.1.2. Caracterização	50
2.2.2.1.2.1. Análise cromatográfica	50
2.2.2.1.2.2. Determinação da densidade	50
2.2.2.1.2.3. Determinação do pH	52
2.2.2.1.2.4. Quantificação de quercetina (Método CP/UV)..	52
2.2.2.1.2.5. Validação do método CP/UV	53
2.2.2.2. Extrato Parcial Amostra (EpA)	55
2.2.2.2.1. Preparação	55
2.2.2.2.2. Caracterização	55
2.2.2.2.2.1. Análise cromatográfica	55
2.2.2.2.2.2. Determinação da densidade	55
2.2.2.2.2.3. Determinação do pH	55
2.2.2.2.2.4. Determinação do teor alcoólico	56
2.2.2.2.2.5. Determinação do resíduo seco	56
2.2.2.2.2.6. Quantificação de quercetina	56
2.2.2.2.2.7. Quantificação de flavonóides totais	56

	Página
2.2.2.3. Extrato Concentrado (EC)	58
2.2.2.3.1. Preparação	58
2.2.2.3.2. Avaliação	58
2.2.2.3.2.1. Análise cromatográfica	58
2.2.2.3.2.2. Determinação do pH	59
2.2.2.3.2.3. Determinação da perda por dessecação	59
2.2.2.3.2.4. Quantificação de quercetina	59
2.2.2.3.2.5. Quantificação de flavonóides totais	60
2.2.2.3.2.6. Avaliação microbiológica	60
2.2.3. BASES DE POMADAS	62
2.2.3.1. Caracterização das Matérias-Primas	63
2.2.3.2. Fórmulas das Bases	65
2.2.3.3. Preparação e Acondicionamento	65
2.2.3.4. Avaliação	66
2.2.3.4.1. Determinação do pH	66
2.2.3.4.2. Determinação da Consistência	67
2.2.3.4.3. Determinação da Espalhabilidade	68
2.2.3.4.4. Determinação do Índice de Oleo	70
2.2.3.4.5. Avaliação Reológica	70
2.2.3.4.6. Avaliação Microbiológica	74
2.2.4. POMADAS	74
2.2.4.1. Pomadas-referência de Quercetina	74
2.2.4.1.1. Preparação	74
2.2.4.1.2. Determinação Quantitativa de Quercetina	75
2.2.4.2. Pomadas Contendo Extrato Concentrado	75

	Página
2.2.4.2.1. Preparação e Acondicionamento	75
2.2.4.2.2. Avaliação	76
2.2.4.2.2.1. Determinação do pH	76
2.2.4.2.2.2. Determinação da espalhabilidade	76
2.2.4.2.2.3. Determinação do índice de óleo	76
2.2.4.2.2.4. Avaliação reológica	76
2.2.4.2.2.5. Avaliação qualitativa	77
2.2.4.2.2.6. Quantificação de quercetina	77
2.2.4.2.2.7. Avaliação microbiológica	77
2.2.4.2.2.8. Determinação da liodisponibilidade	78
2.2.4.2.2.9. Estudo preliminar da estabilidade	80
2.2.5. CALCULOS ESTATISTICOS	83
3. RESULTADOS	85
3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS MATERIAS-PRIMAS	85
3.1.1. MATERIA-PRIMA VEGETAL	85
3.1.1.1. Caracterização Botânica	85
3.1.1.2. Análise Cromatográfica	87
3.1.1.2.1. Cromatografia em papel (CP)	87
3.1.1.2.2. Cromatografia em camada delgada (CCD)	88
3.1.1.3. Determinação da Perda por Dessecação	89
3.1.1.4. Determinação do Teor de Extrativos	89
3.1.1.5. Determinação do Teor de Oleo Volátil	89
3.1.1.6. Determinação Quantitativa de Flavonóides	
Totais	90

	Página
3.1.2. ETANOL COMERCIAL 96°GL	90
3.1.3. MATERIAS-PRIMAS DAS BASES DE POMADAS	91
3.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO CP/UV	94
3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS INTERMEDIARIOS	96
3.3.1. EXTRATO HIDROALCOOLICO	96
3.3.1.1. Análise Cromatográfica	96
3.3.1.2. Determinação do pH e Densidade	97
3.3.1.3. Determinação Quantitativa de Quercetina	97
3.3.2. EXTRATO PARCIAL AMOSTRA (EpA)	98
3.3.2.1. Análise Cromatográfica	98
3.3.2.2. Determinações Organolépticas e Físico-químicas..	99
3.3.2.3. Determinação do Resíduo Seco	99
3.3.2.4. Determinações Quantitativas	99
3.3.2.4.1. Avaliação da Influência do Tempo de Reação nos Valores de Absorção de Flavonóides Totais	100
3.3.3. EXTRATO CONCENTRADO (EC)	100
3.3.3.1. Determinações Organolépticas e Físico-químicas.	100
3.3.3.2. Análise Cromatográfica	101
3.3.3.3. Determinação da Perda por Dessecação	102
3.3.3.4. Determinações Quantitativas	102
3.3.3.5. Avaliação Microbiológica	103
3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS BASES DE POMADAS	103
3.4.1. DETERMINAÇÕES ORGANOLEPTICAS E FISICO-QUIMICAS...	103
3.4.2. DETERMINAÇÃO DO INDICE DE OLEO	104

	Página
3.4.3. DETERMINAÇÃO DA CONSISTENCIA	104
3.4.4. DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE	105
3.4.5. AVALIAÇÃO REOLOGICA	107
3.4.5.1. Determinação da Viscosidade	107
3.4.5.2. Determinação do Grau de Tixotropia	108
3.4.5.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico	109
3.4.6. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	109
3.5. CARACTERIZAÇÃO DAS POMADAS	109
3.5.1. DETERMINAÇÃO DO pH	109
3.5.2. AVALIAÇÃO QUALITATIVA	110
3.5.3. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA	111
3.5.4. DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE DE ÓLEO	111
3.5.5. DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE	112
3.5.6. AVALIAÇÃO REOLOGICA	114
3.5.6.1. Determinação da Viscosidade	114
3.5.6.2. Determinação do Grau de Tixotropia	115
3.5.6.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico	116
3.5.7. DETERMINAÇÃO DA LIODISPONIBILIDADE	116
3.5.7.1. Total de Quercetina Liberada	116
3.5.7.2. Área Sob as Curvas de Liodisponibilidade	117
3.5.8. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA	118
3.5.9. ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE	119
3.5.9.1. Determinação Quantitativa	119
3.5.9.2. Determinação da Espalhabilidade	120
3.5.9.3. Avaliação Reológica	130

	Página
3.5.9.3.1. Determinação da Viscosidade	130
3.5.9.3.2. Determinação do Grau de Tixotropia	141
3.5.9.3.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico	142
3.5.9.4. Determinação da Liodisponibilidade	143
3.5.9.4.1. Validação da Determinação Quantitativa de Flavonóides Totais	143
3.5.9.4.2. Total de Flavonóides Liberados	144
3.5.9.4.3. Areas sob as Curvas de Liodisponibilidade (ASC)	147
3.5.9.4.4. Análise Cromatográfica dos Eluatos da Liodisponibilidade	149
4. DISCUSSAO.....	151
5. CONCLUSOES.....	206
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	208

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Flavonóides relatados para <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. Compositae	13
2. Componentes relatados na composição do óleo volátil extraído das inflorescências de <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. Compositae	14
3. Outros componentes relatados para <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC. Compositae e isolados das partes aéreas do vegetal	18
4. Componentes utilizados na preparação das bases de pomadas (g)	66
5. Caracterização botânica das partes aéreas de <i>Achyrocline satureioides</i> (Lam.) DC., através da comparação entre dados da literatura e os observados nas plantas coletadas	85
6. Perda por dessecação da matéria-prima vegetal após 3 meses de armazenamento	89
7. Teor de extrativos da matéria-prima vegetal moída, após 3 meses de armazenamento	89
8. Concentração de flavonóides totais na droga (0,630 - 0,800 mm) considerando a perda por dessecação	90
9. Caracterização do etanol 96 ^o GL submetido às determinações prescritas na Farmacopéia americana 21 ^a ed. (THE UNITED, 1985)	90
10. Caracterização das matérias-primas das bases de pomada submetidas às determinações farmacopéicas	91
11. Influência do tempo de refluxo sobre a extração de quercetina no método CP/UV (255 nm)	94
12. Absorvâncias do suporte cromatográfico (papel) empregado no método CP/UV (255 nm)	94
13. Absorvâncias das soluções padrão de quercetina e do suporte cromatográfico (papel), determinados respectivamente por UV e por CP/UV (255 nm)	95

	Página
14. Equação das curvas de absorção das soluções-padrão de quercetina descritas na tabela 13	95
15. Valores de pH e densidade dos extratos parciais	97
16. Concentração de quercetina nos extratos parciais (Ep) determinada pelo método CP/UV	97
17. Resíduo seco determinado no extrato parcial amostra (EpA)	99
18. Concentrações de quercetina e de flavonóides totais no extrato parcial amostra	99
19. Influência do tempo de reação sobre os valores de absorção de flavonóides totais	100
20. Perda por dessecação do extrato concentrado (EC)	102
21. Concentrações de quercetina e flavonóides totais no extrato concentrado	102
22. Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) no extrato concentrado	103
23. Características organolépticas e pH das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG)	103
24. Índices de óleo das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) determinados a 30°C	104
25. Consistência das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) determinada com penetrômetro a 25°C ..	104
26. Valores da espalhabilidade (Ei) da base hidrofílica em função do peso adicionado	105
27. Valores da espalhabilidade (Ei) da base monoestearato de glicerila em função do peso adicionado	106
28. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base hidrofílica	107
29. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base monoestearato de glicerila	108
30. Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) nas bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG)	109

	Página
31. Concentração de quercetina nas pomadas-referência ...	111
32. Concentração de quercetina nas pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG)	111
33. Índices de óleo das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) determinados a 30°C	111
34. Valores da espalhabilidade (Ei) da pomada hidrofílica em função do peso adicionado	112
35. Valores da espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado	113
36. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada hidrofílica	114
37. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila	115
38. Total de quercetina liberada (μg) das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo	116
39. Áreas sob as curvas de biodisponibilidade das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG)	117
40. Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) nas pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG)	118
41. Concentração de quercetina na pomada monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento	119
42. Valores de espalhabilidade (Ei) da base e da pomada monoestearato de glicerila (MEG) em função do peso adicionado, determinados no tempo zero	120
43. Valores de espalhabilidade (Ei) da base monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 45°C	121
44. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 3 dias de armazenamento a 25°C	122
45. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 6 dias de armazenamento a 25°C	123

46. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 10 dias de armazenamento a 25°C	124
47. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 25°C	125
48. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 3 dias de armazenamento a 35°C	126
49. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 6 dias de armazenamento a 35°C.....	127
50. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 10 dias de armazenamento a 35°C	128
51. Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 35°C	129
52. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base monoestearato de glicerila determinados no tempo zero	130
53. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 45°C	131
54. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados no tempo zero	132
55. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 3 dias de armazenamento a 25°C	133
56. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 6 dias de armazenamento a 25°C	134
57. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 10 dias de armazenamento a 25°C	135

58. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 25°C	136
59. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 3 dias de armazenamento a 35°C	137
60. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 6 dias de armazenamento a 35°C	138
61. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 10 dias de armazenamento a 35°C	139
62. Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 35°C	140
63. Valores do grau de tixotropia da base e da pomada monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo e da temperatura de armazenamento	141
64. Valores dos pontos de fluidez teórico da base e pomada monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo e da temperatura de armazenamento	143
65. Relação entre diluições da solução-mãe (SM ₁), obtida na quantificação de flavonóides totais do eluato da décima hora da liodisponibilidade da pomada MEG, e as respectivas absorvâncias	144
66. Total de flavonóides liberados (µg) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo	145
67. Total de flavonóides liberados da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	145
68. Total de flavonóides liberados da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	146
69. Areas sob as curvas de liodisponibilidade (ASC) de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila no tempo zero do estudo preliminar da estabilidade	146
70. Areas sob as curvas de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	147

	Página
71. Areas sob as curvas de biodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	148
72. Equações de espalhabilidade das pomadas e respectivas bases	176
73. Equações de espalhabilidade (Ei) da base e da pomada monoestearato de glicerila em função da temperatura e do tempo de armazenamento	183

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Comportamento reológico de corpos tixotrópicos	26
2. Comportamento reológico de corpos reopéxicos	26
3. Esquema geral da obtenção de pomada contendo extrato vegetal de <i>Achyrocline satureioides</i>	51
4. Penetrômetro de cone	67
5. Dispositivo para determinação da espalhabilidade	69
6. Representação esquemática para análise do reograma	73
7. Esquema do aparelho de cedência	79
8. Perfil cromatográfico do extrato (Ext.) e das substâncias-referência obtido por CP	87
9. Perfil cromatográfico do extrato (Ext.) e das substâncias-referência obtido por CCD	88
10. Perfil cromatográfico dos extratos parciais (Ep) e das substâncias-referência obtido por CP	96
11. Perfil cromatográfico do extrato parcial amostra (EpA) e das substâncias-referência obtido por CP	98
12. Perfil cromatográfico do extrato concentrado (EC) e das substâncias-referência obtido por CP	101
13. Perfil cromatográfico das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) e das substâncias-referência obtido por CP	110

14. Perfil cromatográfico dos eluatos da liodisponibilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C e das substâncias-referência	149
15. Perfil cromatográfico dos eluatos da liodisponibilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C e das substâncias-referência	150
16. Influência do tempo de reação sobre os valores de absorção de flavonóides totais	156
17. Influência do tempo de extração nos valores de absorvância de flavonóides totais	157
18. Curva-padrão de quercetina a 255 nm. UV direto, CP/UV e CP/UV-B	158
19. Relação das absorvâncias do padrão de quercetina por UV direto e CP/UV e por UV direto e CP/UV-B	159
20. Espectro de absorção do papel de filtro	160
21. Curva de absorção do papel de filtro a 255 nm	162
22. Espalhabilidade das bases monoestearato de glicerila e hidrofílica em função do peso adicionado	167
23. Reograma da base e da pomada monoestearato de glicerila (MEG)	169
24. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico da base monoestearato de glicerila	171
25. Reograma da base hidrofílica	171

26. Espalhabilidade das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila em função do peso adicionado	174
27. Representação esquemática para análise do reograma da base e da pomada monoestearato de glicerila	178
28. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico da pomada monoestearato de glicerila	179
29. Reograma da pomada hidrofílica	179
30. Perfis de biodisponibilidade de quercetina das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila	181
31. Espalhabilidade da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. 20 ± 2°C , tempo zero; 45°C, 14 dias	185
32. Reogramas da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. 20 ± 2°C, tempo zero; 45°C , 14 dias	185
33. Representação esquemática para análise dos reogramas da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. 20 ± 2°C, tempo zero; 45°C, 14 dias	186
34. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico(τ_t) da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. 20 ± 2°C, tempo zero; 45°C, 14 dias	187
35. Espalhabilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	189

36. Espalhabilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	190
37. Reograma da base e da pomada monoestearato de glicerila	191
38. Representação esquemática para análise do reograma da pomada monoestearato de glicerila	191
39. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da pomada monoestearato de glicerila	192
40. Reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	193
41. Reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	194
42. Representação esquemática para análise dos reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	195
43. Representação esquemática para análise dos reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	196
44. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	198
45. Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	199

46. Influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre o limite de fluidez da pomada monoestearato de glicerila. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, tempo zero e após armazenamento a 25°C e a 35°C	200
47. Relação entre diluições da solução-mãe obtidas na técnica de quantificação de flavonóides totais do eluato da décima hora da liodisponibilidade da pomada MEG e as respectivas absorvâncias	201
48. Perfil da liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila	202
49. Perfis de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C	203
50. Perfis de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C	204

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

A	absorvância
A ₁₋₇	aliquotas 1 a 7
A _B	absorvância do papel filtro
AC	ácido cafeico
A _{CP/UV}	absorvância de quercetina pelo método CP/UV
AEC	área entre as curvas
ASC	área sob a curva
AUFS	absorbance units of full scale (unidades de absorvância de escala total)
A _{UV}	absorvância de quercetina diretamente por ultravioleta
a/b	relação das inclinações das retas
$\overline{BX3}$	inclinação de $\overline{BX3}$
C	fator de cisalhamento
CCD	cromatografia em camada delgada
CFT	concentração de flavonóides totais
CG	cromatografia gasosa
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência
CP	cromatografia em papel
CP/UV	cromatografia em papel/espectrofotometria no ultravioleta

CQ	concentração de quercetina
D	gradiente de cisalhamento
d	diâmetro médio
d.i.	diâmetro interno
E	fator de empuxo
EC	extrato concentrado
Ei	espalhabilidade
Ep	extrato parcial
EpA	extrato parcial amostra
Ext	extrato
fc	fator de correção
fd	fator de diluição
iAa	índice de atividade antiinflamatória
K	intersecção com o eixo de τ
K'	inclinação da reta $D = f(\tau)$
LU	luteolina
M ₁₋₇	macerados 1 a 7
MEG	monoestearato de glicerila
MQ	3-O-metilquercetina
m.p.	microrganismos patógenos
m.v.t.	microrganismos viáveis totais
m ₁₋₇	micelas 1 a 7
Q	quercetina
S	valor de escala do viscosímetro rotativo
SA	solução-amostra
SC	solução comparativa

SM	solução-mãe
TE	teor de extrativos
t	perda por dessecação
U	fator de velocidade
UFC	unidades formadoras de colônias
UV	ultravioleta
V	fator de viscosidade
$\overline{X1B}$	inclinação de $\overline{X1B}$
τ	tensão de cisalhamento
τ_t	ponto de fluidez teórico
↑	curva ascendente
↓	curva descendente
n	viscosidade

1. INTRODUÇÃO

1.1. RELEVANCIA DO TEMA E OBJETIVOS

A universalização do emprego das plantas medicinais e a sua industrialização obrigam a uma ótica diferenciada visando à eficácia de seu uso, à segurança do consumidor e à constância da qualidade (PETROVICK et al., 1988).

O desenvolvimento de metodologias que propiciem exatidão e reprodutibilidade com a finalidade de assegurar a qualidade dos fitoterápicos tem sido objeto de diversos estudos (SONAGLIO, 1987; MELLO 1989; CARDOSO, 1990; FRANCO, 1990).

A qualidade total, vista como o somatório das qualidades dos insumos, das diversas etapas do ciclo de processamento e do produto final, depende do conhecimento das características das matérias-primas e das operações e deve ser o principal objetivo de cada uma destas etapas de transformação (HANKE, 1984; HARNISCHFEGGER, 1985).

A droga objeto desse estudo é constituída pelas sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae, popularmente denominada marcela ou macela, de uso difundido na medicina popular do Rio Grande do Sul. Estudos sobre a composição

química deste vegetal demonstraram a presença de compostos polifenólicos, dos quais a maioria são flavonóides (HAENSEL, OHLENDORF, 1971; FERRARO et al., 1981; SIMOES, 1984; MESQUITA et al., 1986; BROUSSALIS et al., 1988; LIMA et al., 1990), ácidos polifenólicos (FERRARO et al., 1981; BROUSSALIS et al., 1988), óleos voláteis (RICCIARDI et al., 1961; RICCIARDI, YUNES, 1965; AKISUE, 1971; BAUER et al., 1979; HIRSCHMANN, 1984; LAMATY et al., 1991), derivados fenilpirona (HIRSCHMANN, 1984), uma kawapi-rona (KALOGA et al., 1983) e heteroglicanas (WAGNER et al., 1984).

Estudos farmacológicos têm comprovado, além das principais atividades terapêuticas do uso popular (LANGELOH, SCHENKEL, 1982a, 1982b, 1985; SIMÕES, 1984; SIMÕES et al., 1984a, 1984b, 1986a, 1986b, 1988b), atividades antiviral (SIMOES, 1990*) e antiinflamatória tópica (SIMOES, 1988).

Desse modo, os resultados dos estudos botânicos, fitoquímicos e farmacológicos caracterizam suficientemente a *Achyrocline satureioides* como matéria-prima farmacêutica.

SONAGLIO (1987) desenvolveu metodologias para determinar, assegurar e manter a qualidade de extratos hidroalcoólicos de *Achyrocline satureioides*. Tais dados podem ser empregados na caracterização destes extratos, quer como forma farmacêutica, quer como produto intermediário na obtenção de formas derivadas.

*SIMOES, C.M.O. Atividade antiviral para extratos aquosos e alcoólicos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (Estudos preliminares). França : Faculdade de Farmácia, Universidade de Rennes, 1990. Comunicação pessoal.

Este conjunto de aspectos conduziu ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica de aplicação tópica.

Entre as diversas formas farmacêuticas empregadas por esta via de administração, as formas plásticas apresentam várias vantagens, salientando-se entre estas a possibilidade de direcionar o grau de penetração da substância ativa na pele (LIPPOLD, 1976; HORSCH, 1984).

A incorporação de extratos vegetais, concentrados ou não, à base de pomadas, depende, além da viabilidade técnica, do teor desejado de substâncias ativas no produto final.

Não existe uma base universal para pomadas (KOTWAS, ZESCH, 1979; VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; ZIEGENMEYER, 1982; LIPPOLD, 1984; SCHOEFFLING-KRAUSE, 1987). A seleção da mesma deverá se basear nas propriedades físicas e físico-químicas das substâncias ativas, entre as quais, solubilidade e coeficiente de partição, bem como no tipo e local de aplicação, no nível de desenvolvimento da enfermidade (processo agudo ou crônico), no tipo de pele e nas características naturais da região a tratar (VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; ZIEGENMEYER, 1982; LIPPOLD, 1984; SCHOEFFLING-KRAUSE, 1987).

A avaliação das qualidades farmacêuticas de bases e pomadas abrange o emprego de técnicas físicas, físico-químicas, químicas e biológicas. Dentre estas, destacam-se as que avaliam as propriedades reológicas, pois é desejável que as mesmas confirmem a pomada propriedades de plasticidade com ponto de fluidez não muito elevado, ausência de elasticidade, viscosidade

não elevada, comportamento reológico pouco dependente da temperatura e tixotropia (LIPPOLD, 1984).

A biodisponibilidade das substâncias ativas poderá variar de acordo com a base de pomada empregada uma vez que a mesma exerce influência sobre a liberação e, conseqüentemente, sobre a atividade terapêutica do produto final (OSTRENGA et al., 1971; BILLUPS, PATEL, 1979). A biodisponibilidade, isto é, a extensão da cedência das substâncias ativas a um meio líquido, pode servir de indicativo para esta avaliação. Para tanto, vários equipamentos tem sido propostos (NEUBERT, WOHLRAB, 1990). Um dos critérios decisivos na escolha de um ou outro relaciona-se com a obtenção de resultados reprodutíveis, visto que não existe modelo de aplicação generalizada para a avaliação da cedência de formulações plásticas (LOTH et al., 1979; BILLUPS, PATEL, 1979; NEUBERT, WOHLRAB, 1990).

Este trabalho, que interliga estudos botânicos, fitoquímicos, farmacológicos e tecnológicos, tem como objetivo o desenvolvimento de forma farmacêutica plástica contendo extrato concentrado das sumidades floridas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae e a avaliação das características farmacêuticas da formulação desenvolvida.

1.2. REVISÃO DE LITERATURA

A utilização das plantas como agentes terapêuticos pelo homem remonta a sua própria origem e durante milênios fez-se em base meramente empírica.

Com o advento da era industrial surgiram produtos isolados de plantas e de síntese, os quais passaram a ser preferidos aos extratos vegetais (BLUMENTHAL-BARBY, BALCK, 1986).

Esta postura começou a mudar lentamente nas últimas décadas principalmente devido:

- às expectativas exageradas criadas em torno dos produtos sintéticos;

- aos efeitos indesejáveis e prejuízos causados tanto pelo uso correto como pelo uso abusivo destes medicamentos;

- ao reconhecimento de que para o desenvolvimento de novos medicamentos, as pesquisas de plantas medicinais utilizadas na medicina popular apresentam perspectivas inegáveis;

- ao reconhecimento de que ampla camada da população não tem acesso ao medicamento (SCHENKEL et al., 1985).

Assim, as plantas medicinais passaram a ser consideradas por profissionais e órgãos governamentais como recurso terapêutico viável em programas governamentais, bem como industrialmente.

Na Farmacopéia vegetal Britânica (BRITISH HERBAL, 1983) constam 232 monografias de plantas medicinais. Na China, o primeiro volume da Farmacopéia Chinesa de 1977 é totalmente destina-

do às plantas da medicina chinesa e seus derivados. Contém cerca de 1152 monografias (PEIGEN, 1981). Na Rússia, mais de 600 espécies de plantas são utilizadas como matéria-prima nas indústrias químico-farmacêuticas e farmácias (BERNATH, 1990). Na Alemanha, na "Rote Liste" estão inscritas 405 plantas medicinais (VOGEL, 1984). De acordo com CARRUBA (1990), aproximadamente 25% das substâncias farmacêuticas utilizadas atualmente no mundo incluem plantas medicinais ou compostos delas isolados.

Com base nestes fatos, o estudo de plantas medicinais como fonte de medicamentos é advogado pela Organização Mundial de Saúde no seu programa "Saúde para todos no ano 2000" (AKERELE, 1985).

No Brasil, apesar da reconhecida potencialidade da flora brasileira, cuja catalogação abrange cerca de 100.000 espécies (CARLINI, 1988), das quais 590 estão registradas para comercialização no Ministério da Saúde (ORTEGA et al., 1989), apenas 26 drogas vegetais estão inscritas na Farmacopéia Brasileira 3^a ed. (FARMACOPEIA, 1977).

Deve-se considerar, porém, que os códigos anteriores, as Farmacopéias Brasileiras 1^a e 2^a ed. (PHARMACOPEIA, 1926; FARMACOPEIA, 1959) mantêm ainda válidas monografias referentes a 306 drogas vegetais. No entanto, a maioria das mesmas está completamente defasada já que na época da edição da primeira Farmacopéia Brasileira métodos importantes de análise como cromatografia e espectroscopia eram ainda incipientes.

Afora os motivos de ordem econômica, que por si só

justificariam a adoção de medidas que visassem à ampliação da pesquisa e do uso de plantas medicinais no Brasil, acrescenta-se outro fator, de cunho social e de maior importância: 50 milhões de brasileiros não têm acesso ao medicamento industrializado (CARLINI, 1988).

Numa tentativa de reverter este quadro, a Central de Medicamentos (CEME) (BRASIL, 1985) iniciou o programa de Pesquisa de Plantas Medicinais, através da avaliação sistemática e da análise científica do arsenal vegetal brasileiro, para que o mesmo possa ser utilizado pelo sistema de saúde nos níveis primário e secundário.

A introdução de um vegetal como fitoterápico exige trabalho de equipe multidisciplinar, pois envolve uma complexidade de conhecimentos relativos à identificação botânica, ao cultivo racional, à avaliação farmacológica e às técnicas de produção e de controle de qualidade.

A qualidade de fitoterápicos deverá ser assegurada através da identificação botânica e farmacognóstica, ensaios e testes de caracterização, determinação da pureza, propriedades físicas, físico-químicas, químicas e biológicas, quantificação de substâncias ativas e avaliação da eficácia e da segurança (HALBACH, 1983; HARNISCHFEGER, 1985).

Desse modo, a qualidade total na produção de um fitoterápico será o somatório das qualidades dos insumos, dos produtos intermediários, do ciclo de processamento e do produto final (HANKE, 1984; HARNISCHFEGER, 1985).

De acordo com FARNSWORTH et al. (1985), os países em desenvolvimento não estão preparados para obter, em curto ou médio prazo, drogas puras isoladas de plantas. Por outro lado, estes países possuem uma flora rica, população conhecedora das propriedades medicinais da flora e a maioria da população culturalmente adaptada ao uso de plantas como recurso terapêutico. Com base nestas questões, sugere que estes países efetivem programas para o desenvolvimento de fitoterápicos que propiciem segurança e eficácia.

A escolha dos vegetais deverá recair inicialmente naqueles utilizados na medicina popular de acordo com os seguintes critérios:

- generalização de seu emprego;
- constância da indicação;
- disponibilidade.

Favorece ainda esta seleção o estágio dos conhecimentos científicos com relação às características botânicas, químicas e farmacológicas do vegetal.

Dentre as plantas utilizadas para fins medicinais, a *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC - Compositae popularmente denominada marcela ou macela, preenche estes pré-requisitos. É utilizada na medicina popular principalmente no Uruguai, Paraguai Argentina e sul do Brasil, onde se encontra amplamente distribuída. No Rio Grande do Sul é uma das plantas medicinais mais utilizada pela população (SIMOES, 1984). É empregada internamente como digestivo, antiespasmódico, carminativo, colagogo,

eupéptico, antidiarréico, anti-séptico intestinal, antiinflamatório, emenagogo e hipocolesterolêmico. Seu emprego também é relatado em quadro de asma brônquica e no controle da glicogênese. Externamente é utilizada como antiinflamatório e anti-séptico (D'AVILA, 1910; PHARMACOPEIA, 1926; HOEHNE, 1939; GONZALES, LOMBARDO, 1943; MANFRED, 1958; CARVALHO, 1972; ROSA, 1977; ARAUJO, 1979; VAN DER BERG, 1980; PAVETTI et al., 1982).

MENTZ e SCHENKEL (1989), confrontando as indicações de *A. satureioides* contidas nas informações de indústrias farmacêuticas do Rio Grande do Sul com os dados etnofarmacológicos, constataram concordância na maioria das mesmas. Porém as indicações em diarréias, dores uterinas e como diurético não encontram respaldo na literatura etnofarmacológica.

Devido a estes dados, a *A. satureioides* tem recebido atenção especial de vários grupos de pesquisadores.

Testes farmacológicos foram realizados para verificar as atividades biológicas de preparações de marcela tendo sido relatadas atividade antibacteriana em extratos das sumidades floridas (MOTA, 1963; GUTKIND et al., 1981), capacidade inibitória significativa contra *Bacillus subtilis* e *Staphylococcus aureus* em extrato etanólico das sementes (MARTINS et al., 1988), atividade antiespasmódica em extratos aquosos e hidroalcoólicos das sumidades floridas (LANGELOH, SCHENKEL, 1982a, 1982b, 1985; SIMOES et al., 1984b, 1988b; DOMINGOS et al., 1990) e extrato aquoso de folhas e caules (SIMOES et al., 1984a, 1986a), atividade analgésica em extratos aquosos a frio e a quente e etanólico

das inflorescências (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b), atividade antiinflamatória em extratos aquosos a frio e a quente, etanólico (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b) e hidroalcoólico (SONAGLIO, 1987) das sumidades floridas, efeitos característicos de substâncias depressoras do sistema nervoso central em extratos aquosos a frio (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b) e a quente (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b; POLI et al., 1988) e etanólico (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b) das sumidades floridas, atividade imunoestimulante em extratos aquosos (WAGNER et al., 1984; 1985; PUHLMANN, 1989), atividade antiinflamatória tópica em extratos aquosos e alcoólicos das sumidades floridas (SIMOES, 1988) e atividade antiviral em extratos aquosos e alcoólicos das inflorescências (SIMOES, 1990*). Não foi detectada ação de extratos aquosos a frio e a quente e etanólico das inflorescências sobre o trânsito intestinal através da avaliação da propulsão de uma suspensão de carvão (SIMOES, 1984; SIMOES et al., 1988b).

Com relação aos ensaios de toxicidade, os extratos aquosos a frio, a quente e etanólico das sumidades floridas não provocaram mudanças comportamentais nem morte dos animais, até 48 horas após sua administração endovenosa (MOTA, 1963; GUTKIND et al., 1981; SIMOES, 1984; SONAGLIO, 1987).

*SIMOES, C.M.O. Atividade antiviral de extratos aquosos e alcoólicos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae. (Estudos preliminares). França: Faculdade de Farmácia Universidade de Rennes, 1990. Dados não publicados.

VARGAS et al. (1990) verificaram atividade mutagênica para microrganismo na presença de ativação microsossomal através de teste de Ames nas linhagens TA 98, TA 100 e TA 102, Cromoteste e Induteste, em infuso a 50% (m/V) de inflorescências de marcela. Este efeito negativo foi atribuído aos flavonóides, especialmente à quercetina. A ausência de atividade mutagênica sem ativação microsossomal, segundo estes pesquisadores, pode ser explicada pela presença dos flavonóides em sua forma pró-mutagênica e/ou pela presença de pequenas quantidades de forma ativa. Devido a isto, afirmam que os flavonóides em extratos brutos de *Achyrocline satureioides* não possuem atividade mutagênica direta.

Alguns flavonóides presentes na marcela também foram submetidos à investigação quanto a possíveis ações mutagênicas. Não houve comprovação de atividade mutagênica para a luteolina (RAVANEL et al., 1987), 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona e 3,5-dihidroxi-7,8-dimetoxiflavona (LIMA et al., 1990) e ácido cafeico (STICH, et al., 1981) por teste de Ames. Com relação à quercetina, há um grande número de relatos referentes à ação mutagênica para microrganismos, com e sem ativação microsossomal (BJELDANES, CHANG, 1977; SUGIMURA et al., 1977; HARDIGREE, EPLER, 1978; MacGREGOR, JURD, 1978; BROWN, DIETRICH, 1979; PAMUKEU et al., 1980; MELTZ, MacGREGOR, 1981; SAHU et al., 1981; UYETA et al., 1981; MAZAKI et al., 1982; CARVER et al., 1983; CEA et al., 1983; MacDONALD et al., 1983; ELLIGER et al., 1984; OGAWA et al., 1985; MADER, MacDONALD, 1985; LIMA et al., 1990).

Entretanto, testes efetuados com animais apresentaram,

em sua maioria, resultados negativos.

BOEM (1959), na avaliação de uma provável toxicidade aguda e crônica da quercetina, obteve resultados negativos para administração de 0,2 - 0,5 g/kg, via oral, em camundongos e para 10 - 50 mg/kg administradas via parenteral em cobaias. AMBROSE et al. (1952) relataram ausência de toxicidade crônica para a quercetina quando esta foi administrada a 1% na dieta de ratos e coelhos durante 410 dias. Contrastando com estes resultados, PAMAKEU et al. (1980) comprovaram aparecimento de tumores intestinais e na bexiga de ratos Norwegian alimentados durante 400 dias com dieta contendo 0,1% de quercetina. STOEWESAND et al. (1984), no entanto, empregando as mesmas condições descritas por aqueles pesquisadores, não constataram esta atividade negativa. Devido a estes relatos e à ampla distribuição de quercetina no reino vegetal, o Ministério da Saúde e Bem Estar do Japão patrocinou investigações para averiguar possível atividade carcinogênica destes flavonóides. Nestas pesquisas, desenvolvidas por oito grupos de pesquisadores, foram utilizados ratos, hamsters e camundongos, os quais foram tratados durante períodos que variaram de 410 - 850 dias, com dieta contendo 0,25 - 10% de quercetina. Todos os resultados obtidos foram negativos (HIRONO, 1986).

Em investigações da farmacocinética da quercetina no homem após administração oral, GUGLER et al. (1985) constataram a ausência deste flavonóide e seus metabólicos na urina e detectaram 53% do mesmo inalterado nas fezes dos indivíduos submetidos à avaliação.

Estes relatos demonstram que os efeitos genotóxicos e carcinogênicos dos flavonóides não se encontram definitivamente esclarecidos, verificando-se resultados contraditórios ou insuficientemente assegurados. Aliado ao aprofundamento destas investigações, torna-se imprescindível o estudo farmacocinético dos flavonóides potencialmente mutagênicos. Além disso, a inexistência de ensaios epidemiológicos não permite ponderações quanto à significância de um risco especial para seres humanos (SCHIMMER, 1986; MacGREGOR, 1986).

A composição química da *Achyrocline satureioides* tem sido objeto de inúmeros estudos. Os resultados encontram-se descritos nas tabelas 1, 2 e 3.

TABELA 1 - Flavonóides relatados para *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae.

Flavonóide	Parte do vegetal	Referência
5,8-dihidroxi-3,7-dimetoxiflavona (isognafalina)	inflorescências	HAENSEL, OHLENDORF, 1971
3,5,7,3',4'-pentahidroxiflavona (quercetina)	partes aéreas	FERRARO et al., 1981
3-O-metilquercetina	partes aéreas	FERRARO et al., 1981
3-O-metilgalangina	partes aéreas	FERRARO et al., 1981
5,7,3',4'-tetrahidroxiflavona (luteolina)	inflorescências	SIMÕES, 1984
7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavona	inflorescências	SIMÕES, 1984

TABELA 1 - (Cont.) Flavonóides relatados para *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae.

Flavonóide	Parte do vegetal	Referência
7-O-glicosídeo da 7, 4'-dihidroxi-5-metoxiflavona	inflorescências	SIMÕES, 1984
7-O-glicosídeo da 3-O-metilquercetina	inflorescências	SIMÕES, 1984
5-hidroxi-3,6,7-trimetoxiflavona (alnustina)	partes aéreas	MESQUITA et al., 1986
5,7,8-trimetoxiflavona	partes aéreas	MESQUITA et al., 1986
3,5,7,8-tetrametoxiflavona	partes aéreas	MESQUITA et al., 1986
7-hidroxi-3,5,8-trimetoxiflavona	partes aéreas	MESQUITA et al., 1986
6-hidroxi-quercetina (quercetagenina)	partes aéreas	BROUSSALIS et al., 1988
3,5,7,3'-tetrahidroxi-4'-metoxiflavona (tamarixetina)	partes aéreas	BROUSSALIS et al., 1988
7-O-glicosídeo da tamarixetina	partes aéreas	BROUSSALIS et al., 1988
3,7-O-dimetilquercetina	partes aéreas	BROUSSALIS et al., 1988
5,7-dihidroxi-3,8-dimetoxiflavona (gnafalina)	partes aéreas	BROUSSALIS et al., 1988
3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona	folhas	LIMA et al., 1990
3,5-dihidroxi-7,8-dimetoxiflavona	folhas	LIMA et al., 1990

TABELA 2 - Componentes relatados na composição do óleo volátil extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae.

Componente	Referência
Aldeído α - canfolênico	LAMATY et al., 1991
δ - cadineno	LAMATY et al., 1991
γ - cadineno	LAMATY et al., 1991
γ_2 - cadineno	LAMATY et al., 1991
Canfeno	LAMATY et al., 1991
α - cariofileno	RICCIARDI, YUNES, 1965
β - cariofileno	RICCIARDI, YUNES, 1965 AKISUE, 1971 HIRSCHMANN, 1984 LAMATY et al., 1991
β - cariofileno 1,10-epóxido	HIRSCHMANN, 1984
Carveol*	LAMATY et al., 1991
p - cimeno	RICCIARDI et al., 1961 BAUER et al., 1979 LAMATY et al., 1991
1,8 - cineol	AKISUE, 1971 LAMATY et al., 1991

* Forma isômera não caracterizada.

TABELA 2 - (Cont.) Componentes relatados na composição do óleo volátil extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae.

Componente	Referência
Citronelol	RICCIARDI, YUNES, 1965 LAMATY et al., 1991
α - copaeno	LAMATY et al., 1991
Dihidrocarvona	RICCIARDI, YUNES, 1965
β - eudesmol	LAMATY et al., 1991
Germacreno D	HIRSCHMANN, 1984 LAMATY et al., 1991
α - humuleno	LAMATY et al., 1991
Limoneno	RICCIARDI et al., 1961 BAUER et al., 1979 LAMATY et al., 1991
Limoneno-1,2-epóxido	LAMATY et al., 1991
Mirceno	LAMATY et al., 1991
Mirtenal	LAMATY et al., 1991
Mirtenol	LAMATY et al., 1991
α - muuroleno	LAMATY et al., 1991
(Z) - β - ocimeno	LAMATY et al., 1991
(E) - β - ocimeno	LAMATY et al., 1991
Oxido de cariofileno	LAMATY et al., 1991

TABELA 2 - (Cont.) Componentes relatados na composição do óleo volátil extraído das inflorescências de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae.

Componente	Referência
α - pineno	RICCIARDI et al., 1961 BAUER et al., 1979
β - pineno	RICCIARDI et al., 1961 BAUER et al., 1979 LAMATY et al., 1991
Pinocarveol*	LAMATY et al., 1991
Pinocarvona	LAMATY et al., 1991
Terpinoleno	LAMATY et al., 1991
α - terpineno	LAMATY et al., 1991
γ - terpineno	LAMATY et al., 1991
α - terpineol	LAMATY et al., 1991
Verbenona	LAMATY et al., 1991

* Forma isômera não caracterizada.

TABELA 3 - Outros componentes relatados para *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae e isolados das partes aéreas do vegetal.

Componente	Referência
Acidos e ésteres	
cafeico	FERRARO et al., 1981
clorogênico	BROUSSALIS et al., 1988
isoclorogênico	BROUSSALIS et al., 1988
éster de calerianina contendo ácido cafeico	FERRARO et al., 1981 BROUSSALIS et al., 1988
éster da calerianina contendo ácido protocatéquico	FERRARO et al., 1981
Derivados fenilpirona	HIRSCHMANN, 1984
Kawapirona	KALOGA et al., 1983
Minerais	PUHLMANN, 1989 BASSANI, 1990
Polissacarídeos	WAGNER et al., 1984, 1985 PUHLMANN, 1989

SIMOES (1984), com relação ao aspecto quantitativo da composição química do vegetal, verificou a predominância de

agliconas flavonoídicas, identificando a quercetina e a 3-O-metilquercetina como compostos majoritários das inflorescências do mesmo.

Com o intuito de relacionar as atividades farmacológicas estudadas com a composição química dos extratos testados, SIMOES (1984) comprovou que os flavonóides quercetina, 3-O-metilquercetina e luteolina, isolados das inflorescências deste vegetal, também apresentaram atividade antiinflamatória no modelo de inibição do edema das patas de ratos produzido por carragenina. A mesma autora verificou atividade antiespasmódica para os flavonóides quercetina e 3-O-metilquercetina (SIMOES, 1984). LIMA et al. (1990) relataram atividade antimicrobiana frente a bactérias gram-positivas para quercetina, 3,5-dihidroxi-6,7,8-trimetoxiflavona e 3,5-dihidroxi-7,8,dimetoxiflavona isoladas de extrato acetônico de folhas secas do vegetal.

Estudos efetuados por ROMBAUT et al. (1985) e CASTRILLO et al. (1986 e 1987) classificam a 3-O-metilquercetina e seus derivados como potentes compostos antipoliiovírus. Igualmente encontram-se relatos na literatura de atividade antiviral da quercetina, luteolina e ácido cafeico (MUCSI, 1984; KOENIG, DUSTMANN, 1985).

WAGNER et al. (1984 e 1985) e PUHLMANN (1990) atribuíram a atividade imunoestimulante detectada em extratos aquosos de *A. saturoioides* à presença de polissacarídeos (heteroglicanas).

No que se refere às variações quali e quantitativas da composição química observadas para este vegetal, algumas

considerações podem ser feitas. SIMOES (1984) não constatou a presença de isognafalina relatada por HAENSEL e OHLENDORF (1971), embora tenha reproduzido o procedimento cromatográfico preconizado por estes pesquisadores. Do mesmo modo, FERRARO et al. (1983)* não detectaram isognafalina em amostra analisada de *Achyrocline satureioides*. BROUSSALIS et al. (1988) em investigação efetuada quanto à distribuição de constituintes fenólicos nas espécies do gênero *Achyrocline* não constataram, na espécie *satureioides*, os flavonóides luteolina, 7,4'-dihidroxi-5-metoxiflavona e seu 7-O-glicosídeo, alnustina, 5,7,8-trihidroxiflavona, 3,5,7,8-tetrametoxiflavona e 7-hidroxi-3,5,8-trimetoxiflavona, anteriormente reportados na literatura (SIMOES, 1984; MESQUITA et al., 1986). Com relação à galangina e 3-O-metilgalangina, isoladas por FERRARO et al. (1981), SIMOES (1984), durante análises cromatográficas efetuadas em algumas frações da amostra vegetal estudada, detectou manchas com comportamentos cromatográficos (valores de Rf e coloração das manchas) semelhantes aos descritos na literatura para estas substâncias. No entanto, devido às suas baixas concentrações em relação aos componentes majoritários, quercetina e 3-O-metilquercetina, nas frações analisadas, não pôde proceder ao seu isolamento e a sua identificação. SONAGLIO (1989) constatou diferença nos teores de quercetina das sumidades floridas de marcela, em função da época de floração, em amostras coletadas em diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul.

* Apud SIMOES (1984), op. cit. p. 140

LAMATY et al. (1990) comprovaram diferença qualitativa na composição química dos óleos voláteis obtidos de inflorescências de *A. satureioides* coletadas em oito diferentes regiões geográficas dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina.

Estas diferenças quali e quantitativas podem, possivelmente, ser atribuídas ao período do ciclo vegetativo no qual foram coletadas as amostras, ao tipo de solo, às condições climáticas, ou mesmo por tratarem-se de diferentes variedades botânicas ou raças químicas. Tais evidências, ligadas à coleta extrativa do vegetal, denotam a importância do controle das variáveis ligadas ao aspecto agrônômico, tornando imprescindível o desenvolvimento de cultivo racional (NAGELL, 1985). No Rio Grande do Sul há relato de experimentação realizada pela Secretaria da Agricultura deste Estado.*

Quanto a caracterização botânica deste vegetal, pode-se dizer que as espécies do gênero *Achyrocline* possuem caracteres morfológicos muito semelhantes, o que ocasiona, muitas vezes, dificuldade na sua classificação botânica. Aliado a este fato salienta-se a problemática relacionada com falsificações, substituições, equívocos e adulterações das plantas ou parte de plantas (SCHILCHER, 1981; SCHENKEL et al., 1986; VON POSER, 1987; GOSMANN, 1989; SANTOS, 1989; FRANCO, 1990). Assim, fica evidente a importância da não aquisição de matéria-prima rasurada e a

*OSÓRIO, L. Secretaria da Agricultura do Estado do Rio Grande do Sul, 1991. Comunicação pessoal.

necessidade de análise do material adquirido por profissionais capacitados, de modo que a autenticidade e a qualidade da mesma possam ser asseguradas.

A estes conhecimentos botânicos, químicos, farmacológicos e toxicológicos da *Achyrocline satureioides* somam-se os tecnológicos e de controle de qualidade desenvolvidos por SONAGLIO (1987). Neste trabalho foi abordada a influência de fatores tecnológicos, tais como concentração de sumidades floridas, concentração alcoólica do líquido extrator e tempo de maceração sobre a otimização de extrato hidroalcoólico. Também foi desenvolvida metodologia para verificar a qualidade destes extratos através de testes organolépticos e físico-químicos, avaliação da composição química por métodos cromatográficos como cromatografia em papel (CP), cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG), determinação quantitativa através do doseamento de quercetina, utilizando cromatografia em papel associada à espectrofotometria no ultravioleta (CP/UV) e CLAE. A avaliação da estabilidade do extrato hidroalcoólico otimizado foi efetuada pelo método da degradação térmica acelerada. Foi verificada ainda a atividade antiinflamatória do mesmo extrato, cujos resultados serviram para a determinação do índice de atividade antiinflamatória (iAa), constituindo-se na padronização biológica, e ensaiada a sua toxicidade.

BASSANI (1990) estudou a desalcoholização de solução extrativa hidroalcoólica de *Achyrocline satureioides*, através de

osmose inversa, com a finalidade de preparar um extrato seco por nebulização a partir de solução de baixo teor etanólico. A diminuição do título alcoólico ocasionou perda significativa dos compostos flavonoidicos no produto da filtração. Afóra este problema, a desalcoolização possibilitou obter extratos nebulizados quando da utilização de dióxido de silício coloidal como adjuvante de nebulização. Os extratos obtidos apresentaram boas características físicas e físico-químicas estando a taxa de recuperação dos flavonóides diretamente relacionada com a quantidade de adjuvante adicionado. A mesma autora investigou a utilização da filtração tangencial através de membrana de osmose inversa como técnica de concentração de extratos aquosos de marcela. Como substâncias-referência, foram utilizados os polissacarídeos. Os resultados foram positivos sem alteração qualitativa dos componentes presentes no extrato original.

O somatório dos aspectos citados, especialmente com relação às atividades antiviral e antiinflamatória tópica, conduziu ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica plástica.

Pode-se dizer que a administração cutânea é essencialmente destinada à obtenção de um efeito tópico mais ou menos profundo (terapia local). Raramente se utiliza esta via de administração para a obtenção de ação medicamentosa sistêmica (VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; LIPPOLD, 1984; SCHOEFFLING-KRAUSE, 1987).

Entre as diversas formas farmacêuticas empregadas por esta via de administração, as pomadas são as mais utilizadas, abrangendo mais de 60% destas preparações (LIPPOLD, 1984). O termo pomada compreende todas as formas farmacêuticas semi-sólidas destinadas ao uso tópico. A pomada é constituída por um sistema coloidal bicoerente formado por no mínimo uma fase sólida e uma fase líquida. Neste sistema a fase sólida forma uma estrutura tridimensional coerente que imobiliza a fase líquida, sendo que a manutenção da mesma é garantida por forças de valência acessórias principalmente forças de Van der Waals e pontes de hidrogênio (MUENZEL, 1953; SCHULTE, 1963; FUEHRER, FISCHER, 1974; WURM, 1987).

Este conceito abrange tanto um sistema simples, por exemplo, vaselina, quanto um sistema complexo que contém emulgente (VOIGT, BORNSCHEIN, 1982). A terminologia pomada e base para pomada é usual para diferenciar a incorporação ou não de substância ativa (SCHOEFFLING-KRAUSE, 1987). As pomadas apresentam como principal vantagem a possibilidade de direcionar o grau de penetração da substância ativa na pele (LIPPOLD, 1976, 1984; HORSCH, 1984).

De acordo com SCHOEFFLING-KRAUSE (1987) e LIPPOLD (1984), a base de pomada deve cumprir os seguintes requisitos:

- Atoxicidade;
- Tolerância fisiológica;
- Penetrabilidade ou ação superficial;
- Boa espalhabilidade;

- Cumprir as exigências microbiológicas;
- Estabilidade física, química e microbiológica;
- Possuir número reduzido de componentes;
- Não influir negativamente na liberação da substância ativa.

As pomadas caracterizam-se por apresentar plasticidade, ou seja, deformação irreversível, espalhabilidade, limite de fluidez e viscosidade de equilíbrio. (SCHULTE, 1963; REINER, 1969; GSTIRNER, 1973; STRICKER, 1987; ZOPF, BLAUG, 1990).

Estas propriedades estão geralmente associadas à tixotropia, a qual designa o processo reversível da diminuição isotérmica da viscosidade de uma substância em função da força exercida e do tempo de cisalhamento e se baseia no desmonte da estrutura tridimensional (reodestrução) (REINER, 1969; VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; STRICKER, 1987).

A avaliação do comportamento reológico é feita através da curva de histerese. Para tanto, a amostra é submetida inicialmente a velocidades crescentes de cisalhamento e posteriormente a velocidades decrescentes através da utilização de viscosímetro rotacional. Devido à reodestrução, o reograma apresenta viscosidades menores na curva descendente. A área circunscrita pelos dois braços da curva representa o grau de tixotropia (Figura 1) (REINER, 1969; VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; STRICKER, 1987).

Em contraposição à tixotropia, pode ocorrer a reopexia a qual se caracteriza pelo aumento isotérmico reversível da vis-

cosidade de uma substância em função da força e do tempo de cisalhamento (Figura 2) (REINER, 1969; VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; STRICKER, 1987).

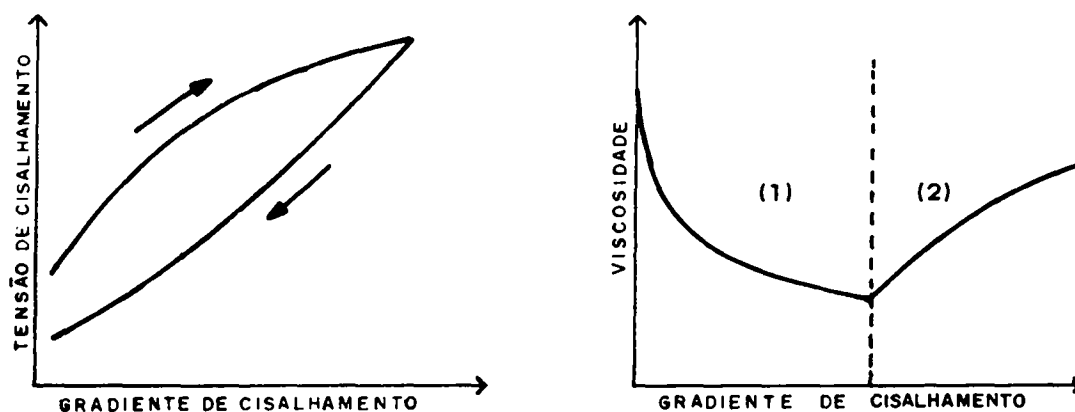


FIGURA 1 - Comportamento reológico de corpos tixotrópicos.

(1) tensão, (2) repouso.

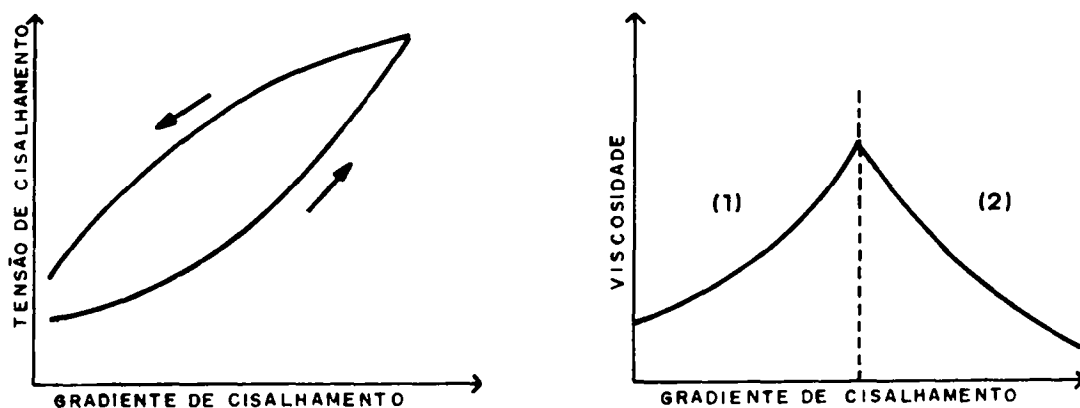


FIGURA 2 - Comportamento reológico de corpos reopéxicos.

(1) tensão, (2) repouso.

De acordo com SCHULTE e KASSEN (1963) e STRICKER (1987), uma substância tixotrópica se caracteriza por apresentar:

- Viscosidade aparente, ou seja, viscosidade dependente da tensão de cisalhamento, do gradiente de cisalhamento, do tempo de cisalhamento e da temperatura.

- Viscosidade de equilíbrio que caracteriza uma desorganização máxima da estrutura do gel em determinado gradiente de cisalhamento e após determinado tempo de cisalhamento. Não é uma constante da substância e sim, uma grandeza característica para cada gradiente de cisalhamento.

- Tempo de regeneração, ou seja, tempo necessário para que haja regeneração da estrutura inicial.

É relevante salientar a importância da avaliação das propriedades reológicas de formas farmacêuticas plásticas em todas as etapas do ciclo de processamento, pois as mesmas servem como auxílio no prognóstico dos efeitos da formulação e do processamento nas características do produto e na avaliação de sua qualidade e estabilidade (BOYLAN, 1969; BARRY, GRACE, 1970; DAVIS, 1974, 1984; ERŐS, 1977; KREUTER, 1979).

Os diversos métodos utilizados para avaliar a tixotropia foram discutidos e estão relacionados na revisão efetuada por MEWIS (1979).

A determinação das características reológicas de formulações plásticas através de viscosímetros rotacionais do tipo cone-placa ou cilindros concêntricos tem sido objeto de diversos estudos (SCHULTE, KASSEM, 1963; SCHULTE, 1963; BOYLAN, 1967; CHEMTOB, PUISIEUX, 1976; BOMBOR, HORSCH, 1977; ERŐS, UGRI-HUNYADVÁRI, 1977a, 1977b, 1979; ERŐS, 1977; ERŐS et al., 1978a, 1978b;

KAIHO et al., 1982; KEDVESSY, 1984; ADAMI et al., 1986; PLAIZIER-VERCAMMEN, ASSELBERGHS, 1988; PLAIZIER-VERCAMMEN, 1989; PLAIZIER-VERCAMMEN et al., 1989).

Para determinadas formulações, a avaliação das qualidades reológicas por cisalhamento contínuo, em viscosímetros rotacionais, é limitada sendo preconizado o uso de viscosímetro de passo helicoidal (FUELLER, MUENZEL, 1960), bem como métodos dinâmicos (DAVIS, 1969, 1971, 1984; BARRY, GRACE, 1970, 1971; KAIHO et al., 1983; RADEBAUGH, SIMONELLI, 1983a, 1983b; KULICHE, 1986; STRICKER, 1987), os quais evitam os fenômenos de deslizamento (efeito Weissenberg) que podem ocorrer nos viscosímetros rotacionais tipo cone - placa e cilindros concêntricos.

ALMEIDA CUNHA e FILQUEIRAS (1977) propuseram uma técnica simples para avaliação reológica de produtos emulsionados.

ERŐS e UGRI-HUNYADUARI (1979) verificaram a influência da tecnologia de produção sobre os parâmetros reológicos de pomadas.

É amplamente relatado na literatura que os adjuvantes utilizados numa formulação plástica podem afetar significativamente as características reológicas (FUELLER, MUNZEL, 1960; SCHULTE, KASSEM, 1963; CHEMTOB, PUISIEUX, 1976; BOMBOR, HORSCH, 1977; ERŐS, 1977; ERŐS, HUNYADVÁRI, 1977a, 1977b, 1979; MAYER et al., 1978; ERŐS et al., 1978a, 1978b; KAIHO et al., 1983; KEDVESSY, 1984; PLAIZIER-VERCAMMEN, ASSELBERGHS, 1988; PLAIZIER-VERCAMMEN, 1989; PLAIZIER-VERCAMMEN et al., 1989). A influência da temperatura sobre estes parâmetros foi igualmente verificada

(SCHULTE, KASSEM, 1963; CHEMTOB, PUISIEUX, 1976; BOMBOR, HORSCH, 1977; KREUTER, 1979).

O efeito da concentração de diversos tensoativos sobre a consistência e estabilidade de pomadas foi investigado por HUETTENRAUCH et al. (1974) e ERŐS et al. (1978a, 1978b).

Do mesmo modo, estes últimos pesquisadores também avaliaram a influência de diferentes concentrações de substância ativa sobre a consistência destas formulações (ERŐS et al., 1978a, 1979b).

ERŐS e HUNYADVÁRI (1977a, 1977b, 1979) demonstraram correlação entre limite de fluidez, viscosidade aparente e espalhabilidade de formulações plásticas.

DAVIS (1974) demonstrou relação mais ou menos linear entre a velocidade de liberação de ácido salicílico de plastibasas e a recíproca da viscosidade aparente. Sob este mesmo enfoque KAIHO et al. (1983) verificaram que a velocidade de liberação de prednisolona de formulações plásticas do tipo O/A foi inversamente proporcional à viscosidade.

MAYER et al. (1978) utilizaram delineamento fatorial para o estudo e avaliação do efeito da composição e da consistência de bases de pomadas sobre a liberação de substâncias ativas.

Quando uma formulação tópica é aplicada sobre a pele, dois processos físicos consecutivos devem ocorrer, os quais determinam a atividade e efetividade terapêuticas: a liberação da substância ativa da forma farmacêutica e a penetração através da barreira constituída pelo estrato córneo (OSTRENGA et al., 1987).

O grau e a velocidade de penetração de uma substância ativa na pele dependerá dos efeitos e interações que os três componentes, veículo, pele e substância ativa exercem no processo de liberação e penetração (KATZ, POULSEN, 1972; LOTH et al., ZIEGENMAYER, 1984; WOHLRAB et al., 1974; SCHOEFFLING-KRAUSE, 1987).

Os fenômenos, as interações e os parâmetros através dos quais ocorrem a liberação e o transporte transepidérmico das substâncias ativas até o local onde exercerão sua atividade terapêutica, podem ser divididos em quatro fases e abrangem um sistema de difusão heterogêneo e muito complexo (LOTH et al., 1979):

I. Liberação da substância ativa:

- Transporte da substância ativa até a interface forma farmacêutica/pele, através de dissolução e difusão, na dependência dos seguintes fatores:
 - . Ligados à substância ativa
 - concentração nas fases sólida e líquida da pomada;
 - solubilidade no veículo;
 - coeficiente de partição;
 - gradiente de atividade;
 - distribuição granulométrica na fase semi-sólida;
 - forma e dimensão molecular.
 - . Ligados à base de pomada
 - viscosidade do meio de difusão.
- Modificação da pomada na pele:
 - perda de água, inversão ou quebra da emulsão.

II. Passagem da substância ativa da pomada para a pele na dependência dos seguintes fatores:

- Umectabilidade da pomada;
- Espalhabilidade da pomada;
- Resistência do estrato córneo à penetração;
- Coeficiente de partição da substância ativa na interface estrato córneo/veículo.

III. Difusão nas camadas da pele na dependência dos seguintes fatores:

- Estrutura e condições das camadas da pele;
- Concentração da substância ativa no estrato córneo na dependência de coeficiente de difusão baixo da substância ativa, do coeficiente de partição da substância ativa nas camadas lipo e hidrofílicas, da ligação da substância ativa com as proteínas do estrato córneo, da dissolução e concentração da substância ativa nos lipídios da pele,
- Influência da pomada e de seus componentes nas alterações das condições da pele como: hidratação, oclusão, queratólise, emoliência, alteração da solubilidade da substância ativa na pele.

IV. Biotransformação das substâncias ativas na pele.

Juntamente com a penetração transepidérmica, ocorre penetração transfolicular e transglandular, as quais, afora seu papel na fase inicial da penetração, possuem pouco significado (LOTH et al., 1979; SCHALLA, SHAEFER, 1982; HADGRAF, 1983;

LIPPOLD, 1982, 1984; SCHOEFLING-KRAUSE, 1987).

A intensidade do efeito terapêutico ocasionado por formulações tópicas dependerá do fluxo de difusão da substância ativa na pele e da influência do veículo nas alterações das condições da pele (LOTH et al., 1979).

As moléculas relativamente pequenas podem difundir-se através de estrato córneo, com coeficiente de difusão na ordem de $10^{-7} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, até as camadas profundas da pele onde poderão exercer sua ação terapêutica, serem biotransformadas ou absorvidas (HADGRAFT, 1983).

Para o desenvolvimento e a otimização de uma formulação farmacêutica plástica vários fatores deverão ser considerados (LOTH et al., 1979):

I. Capacidade de penetração e absorção percutânea da substância ativa: esta exigência dependerá das propriedades físico-químicas da mesma, especialmente do coeficiente de partição entre fase hidro e lipofílica.

II. Liberação da substância ativa da pomada e posterior penetração na pele: uma ação farmacêutica intensa poderá ser obtida através da formação de um alto gradiente de concentração da substância ativa no estrato córneo. O pré-requisito para tanto é uma rápida liberação e um processo de partição favorável na interface pomada/pele, de maneira que a substância ativa, transportada em altas concentrações até a mesma, possa penetrar o estrato córneo.

III. Favorecimento da liberação através da umectabilidade da pele e de adequada espalhabilidade da pomada.

IV. Favorecimento da penetração através do aumento do coeficiente de difusão e da solubilidade da substância ativa no estrato córneo ocasionado por adjuvantes ou substâncias ativas contidas no veículo, os quais podem propiciar efeitos como queratólise, emoliência, hidratação, oclusão ou esfoliação.

A determinação da biodisponibilidade de formulações tópicas possui significado especial na fase de desenvolvimento e otimização de formulações, bem como na determinação da estabilidade e qualidade do produto final (LOTH, HOLLA-BENNINGER, 1978; LOTH et al., 1979). Em relação aos métodos "in vivo", possui como vantagens a reprodutibilidade, a fácil metodologia e a rapidez na obtenção dos resultados facilitando sobremaneira a avaliação dos parâmetros físicos-químicos que envolvem a liberação e a penetração das substâncias ativas na pele (LOTH, HOLLA-PENNINGER, 1978; LOTH et al., 1979; HADGRAFT, 1983).

Como requisitos básicos dos métodos "in vitro" figuram a padronização, a reprodutibilidade, a validação e o reconhecimento internacional (RICHTER et al., 1975; NEUBERT, WOHLRAB, 1990). Embora nesta última década intensos esforços tenham sido direcionados para o desenvolvimento de aparelhos de cedência, particularmente para as formulações tópicas, estes requisitos não foram totalmente preenchidos (RICHTER et al., 1975; LOTH et al., 1979; NEUBERT, WOHLRAB, 1990).

Diversos modelos de liberação "in vitro" têm sido propostos, os quais podem ser agrupados em classes quanto ao princípio de funcionamento (BAUER et al., 1986; STRICKER, 1987; NEUBERT, WOHLRAB, 1990):

- Monocompartimentais abertos ou fechados;
- Multicompartimentais com a utilização de membranas artificiais (hidro ou lipofílicas) ou biológicas.

Os modelos de liberação monocompartimentais caracterizam-se pelo contato direto entre a pomada e a fase aceptora. Esta fase pode ser constituída por uma dispersão (ULMANN, THOMA, 1959; MAYER et al., 1978; NUERNBERG, KOHL, 1980) ou por um líquido (POULSEN et al., 1968; DEMPSKI et al., 1969; CHOWHAN, PRITCHARD, 1975; LIPPOLD, TEUBNER, 1981; JIMBO et al., 1983). Neste caso, a base de pomada deverá apresentar alta viscosidade, ser insolúvel na fase aceptora e o sistema deverá ser provido com mecanismo interno de agitação (LIPPOLD, 1982). Exemplo básico é o sistema proposto por POULSEN et al., (1968). Estes pesquisadores foram os primeiros a utilizar fase aceptora não aquosa. Propuseram um modelo que consiste numa placa de Petri, recoberta internamente por uma camada de pomada, a qual é colocada em um copo de béquer contendo, como fase aceptora, miristato de isopropila.

Nos modelos multicompartimentais a pomada (fase doadora) é separada do meio de cedência (fase aceptora) por membranas artificiais (hidro ou lipofílicas) ou biológicas. O emprego destas membranas deverá assegurar separação física adequada entre as fases, de modo a não influenciar a velocidade de libera-

ção das substâncias ativas (HADGRAFT, 1983; NEUBERT, WOHLRAB, 1990). O uso de membranas biológicas, humana ou animal, foi somente generalizado nos últimos dez anos. Deve-se considerar que a pele é uma membrana viva, dinâmica e, como tal, os parâmetros de liberação e absorção são susceptíveis às variações biológicas advindas de sua procedência (região do corpo da qual foi retirada) e condições (pele sã ou danificada) (IDSON, 1975; LIPPOLD, 1982, 1984; LOTH, HAILER, 1983). As membranas animais mais utilizadas provêm de ratos, camundongos, porcos da Índia, coelhos, porcos e macacos (BRANDAU, LIPPOLD, 1982; JIMBO et al., 1983; TOJO et al., 1987; RITSCHER, AGRAWALA, 1988; FRIEND et al., 1989; NEUBERT, WOHLRAB, 1990). As membranas artificiais de emprego mais difundido são as de celofane (KOIZUMI, HIGUCHI, 1968; MAYER, KEDVESSY, 1969; BILLUPS, PATEL, 1979; BUTLER, MCCARTHY, 1980; LASHMER, HADGRAFT, 1986; PROVOST et al., 1989), celulose e seus derivados (SPANG-BRUNNER, SPEISER, 1976; KAMETANI et al., 1983; TAKAMURA et al., 1984; HABIB et al., 1986), nephrophane (RICHTER et al., 1975; RICHTER, VOIGT, 1976), hidrogel (ZENTNER, CARDINAL, 1978), polímeros de vinil fluorado (WEISS, SCIARRONE, 1969); policarbonato (Nuclepore) (ORBE, SUNDELOEF, 1988), dimetilpolisiloxano (Silastic) (TIEMESSEN et al., 1988), polidimetilsiloxano (PDMS) (LIPPOLD, KURKA, 1983; LIPPOLD, REIMANN, 1989) e politetrafluoretileno (PTFE) (LIPPOLD, KURKA, 1983; LIPPOLD, REIMANN, 1989).

Não somente o tipo de membrana diferencia os modelos multicompartimentais propostos na literatura. Os princípios de

construção e funcionamento são os mais variados. Observa-se que foram adequados a determinadas substâncias não sendo de emprego geral.

Também a estabilidade é requisito essencial para qualquer produto farmacêutico. Este requisito depende de vários fatores inerentes à substância farmacologicamente ativa, aos excipientes, à forma farmacêutica e, finalmente, à embalagem (DAVIS, 1984; RENG, 1984).

De acordo com DAVIS (1987) a instabilidade em qualquer sistema farmacêutico pode ser atribuída a alterações química, física e microbiológica. Estas alterações têm sido objeto de diversos estudos (CARSTENSEN, 1984; RENE, 1984; MUELLER-GOYMANN, 1987; GNEUSS, 1989; LINTNER, 1990).

As formas farmacêuticas semi-sólidas podem sofrer inúmeras alterações físico-químicas. Entre os parâmetros relevantes de avaliação, destacam-se a liberação da substância ativa e as propriedades reológicas, visto que nestas formulações pequenos tempos de armazenamento e pequenas alterações na temperatura podem ocasionar modificações apreciáveis no comportamento reológico (DAVIS, 1984; RENG, 1984).

Os testes de aceleração são comumente utilizados para avaliação da estabilidade e servem como prognóstico da vida útil do medicamento. Devem ser criteriosamente avaliados e selecionados, pois podem introduzir condições que não ocorrem em condições normais de armazenamento. Alguns destes métodos que têm sido propostos para as formas farmacêuticas plásticas incluem

armazenamento em temperaturas selecionadas, centrifugação e agitação (DAVIS, 1984; RENG, 1984).

Os aspectos citados caracterizam a multiplicidade de conhecimentos exigidos para o desenvolvimento de um fitoterápico e a necessidade, em trabalho isolado de investigação, de limitar a profundidade de análise de alguns tópicos.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. MATERIAIS

2.1.1. MATERIAS-PRIMAS

A matéria-prima vegetal, constituída das sumidades floridas da *Achyrocline satureioides*, foi coletada na época de sua floração, em março de 1988, no município de Guaporé (RS). Sua identificação foi feita pela Prof. Lilian Auler Mentz, do departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

As sumidades floridas foram separadas manualmente das demais partes aéreas, armazenadas em temperatura ambiente ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar entre 65 - 72 %, durante sete dias, ao abrigo da luz solar direta.

As pesquisas foram desenvolvidas utilizando-se a droga reduzida em moinho de martelos dotado de peneira com abertura de malha de 7 mm. Para a determinação do teor de óleo volátil foram utilizadas as flores sem redução prévia.

Foram empregados ainda os seguintes adjuvantes:

Acido esteárico perolado "A" DELAWARE

Acido sórbico DELAWARE

Alcool estearílico DELAWARE
Etanol comercial 96°GL PEREIRA
Lanolina sólida DELAWARE
Monoestearato de glicerila (LIPAL GMS) AQUATEC
Lauril sulfato de sódio (DREWPON 100) DREW PRODUTOS
QUIMICOS
Polissorbato 80 DELAWARE
Propilenoglicol DELAWARE
Trietanolamina DELAWARE
Vaselina líquida DELAWARE
Vaselina sólida DELAWARE

2.1.2. REAGENTES, SOLUÇÕES, SUBSTÂNCIAS-REFERENCIA, MEIOS DE CULTURA

Todos os reagentes utilizados possuíam grau de pureza pró-análise.

SOLUÇÕES

Acido acético 40% (V/V)
Acido acético glacial 5% em metanol (V/V)
Acido clorídrico 0,5 N
Acido clorídrico 3 N
Acido clorídrico 5 N
Acido clorídrico SR
Acido clorídrico 1% em etanol 80 % (V/V)

Acido nítrico 5% (V/V)
Amido SR
Cloreto de bário SR
Cromato de potássio SR
Fenolftaleína 1% em etanol (m/V)
Hidróxido de amônio 6 M
Hidróxido de potássio 0,5 N em etanol
Hidróxido de sódio 0,1 N
Hidróxido de sódio SR
Iodeto de potássio SR
Iodobrometo SR
Nitrato de prata 0,1 N
Tampão cloreto de sódio-peptona pH 7,0 (FARMACOPEIA,
1988)
Tampão pH 4,00 MERCK
Tampão pH 7,00 MERCK
Tiosulfato de sódio 0,1 N

SUBSTANCIAS - REFERENCIA

Acido cafeico*
Luteolina*
3-O-metilquercetina*
Quercetina (MERCK, art. 7546 - lote 4149878)

* Cedido pelo prof. Dr. E.P. SCHENKEL, Laboratório de Fitoquímica, Curso de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. RS.

MEIOS DE CULTURA

Agar de caseína-soja (FARMACOPEIA, 1988)
Agar Sabouraud-dextrose (FARMACOPEIA, 1988)
Caldo de caseína-soja (FARMACOPEIA, 1988)
Caldo lactose (FARMACOPEIA, 1988)

2.1.3. Aparelhos e Equipamentos

Agitador mecânico FISATOM mod. 752 A
Aparelho Clevenger modificado (VAN OS, 1965)
Aparelho de destilação para determinação do teor alcoólico (FARMACOPEIA, 1988)
Aparelho vibratório de tamisação RETSCH com tamizes segundo a DIN 4188
Aparelho para refluxo (FARMACOPEIA, 1988)
Areômetro DIN 12791 série M 100 473768 e 473870
Autoclave WEBECO
Balanças analíticas SARTORIUS mod. 2402 e 2253
Banho de água termostatizado HAAKE mod. FJ
Banhos de água KOTTERMANN mod. 3024
Bomba de vácuo FANEM mod. CAL com vacuômetro de 0-760 mm Hg (0-101 kPa)
Bombas peristálticas multiuso DESAGA STA 131900
Calculadora PC-1211 SHARP
Câmara de fluxo laminar horizontal VECO
Centrifuga JANESTZKI mod. T32 A

Conjunto DESAGA para cromatografia em camada delgada
Contador de colônias BIOMATIC mod. 20001
Cuba de vidro para cromatografia (dimensões internas:
22 x 10 cm) com tampa de vidro
Espectrofotômetro UV/VIS VARIAN mod. 634 com regis-
trador linear
Estufa a vácuo HERAEUS mod. RVT 360
Estufas termostatzadas BIOMATIC
Evaporador rotatório BÜCHI RV 2
Lâmpada universal de quartzo FLUOTEST 254 e 360 nm
Microscópio de ponto de fusão tipo Kofler
Microscópio estereoscópico
Moinho de martelos dotado de peneira com abertura de
malha de 7 mm GANASINI
Forno de mufla ELEKTRO
Penetrômetro de cone HERZOG
Potenciômetro DMPH-2 DIGIMED
Prensa hidráulica manual HAFICO
Viscosímetro rotativo, dotado de cilindros concêntri-
cos e cone-placa, ROTOVISKO-HAAKE
Termostato circular HAAKE mod. E11

2.2. METODOLOGIA

2.2.1. CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA VEGETAL

2.2.1.1. Caracterização Botânica

O vegetal foi examinado macroscopicamente e através de microscópio estereoscópico, sob iluminação artificial, sendo verificadas as seguintes estruturas:

Caule

presença ou ausência de alas
forma: cilíndrico ou estriado
presença ou ausência de indumento
características do indumento

Folhas

pecíolo
forma do limbo
presença ou ausência de indumento
características do indumento

Capítulos

dimensões
inflorescências de segunda ordem

Brácteas

cor
consistência

forma

ápice

número de séries

Flores

sexo

forma da corola

número

Papus

presença ou ausência

cor

número de séries

comprimento

Aquênio

cor

presença ou ausência de indumento

forma

2.2.1.2. Análise Cromatográfica (SONAGLIO, 1987)

Tanto para cromatografia em papel (CP) quanto para cromatografia em camada delgada (CCD) foram empregadas como substâncias-referência a quercetina (Q), a 3-O-metilquercetina (MQ), a luteolina (LU) e o ácido cafeico (AC).

2.2.1.2.1. Preparação da Amostra

Foram aquecidos, sob refluxo em banho de água, durante 1 hora, 10,0 g da droga em 200 ml de água. O extrato foi filtrado e o marco prensado e lavado com água fervente. Após, foram realizadas duas extrações do filtrado com 50 ml e mais quatro extrações com 25 ml de acetato de etila R. O extrato acetato de etila foi lavado, duas vezes, com porções de 50 ml de água e filtrado através de papel de filtro contendo pequena quantidade de sulfato de sódio anidro. O papel de filtro e o sulfato de sódio foram lavados com acetato de etila. Os filtrados foram reunidos e evaporados à secura em evaporador rotatório. Após 24 horas em dessecador com gel de sílica, foi procedida a pesagem, obtendo-se um resíduo de 53,3 mg, o qual foi retomado com 25 ml de metanol.

2.2.1.2.2. Cromatografia em Papel (CP)

Foram utilizadas, como suporte, tiras de papel de filtro comum ($81,21 \text{ g/m}^2$) com dimensões de 18 x 25 cm e como eluente ácido acético 40% (V/V).

Procedeu-se o desenvolvimento ascendente dos cromatogramas, em câmara saturada, até altura de aproximadamente 16 cm. Após secagem do suporte à temperatura ambiente, sob ventilação, as substâncias foram detectadas a luz ultravioleta (360 nm).

2.2.1.2.3. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

As cromatoplasmas foram preparadas em laboratório, sobre placas de vidro (20 x 20 cm), empregando-se como fase estacionária celulose microcristalina na espessura de 0,25 mm e como fase móvel, mistura em proporções volumétricas de clorofórmio: ácido acético glacial: água (50 : 40 : 5).

Para o desenvolvimento e visualização dos cromatogramas foi utilizado o mesmo procedimento descrito para cromatografia em papel (item 2.2.1.2.2., p.45).

2.2.1.3. Determinação da Perda por Dessecação (HARTKE, MUTSCHLER, 1987)

Foram pesados exatamente cerca de 2,0 g da droga em pesa-filtro (d.i. 27 mm x 55 mm), previamente tarado, o qual foi colocado em estufa a 105°C durante 2 horas, resfriado em dessecador. Após, foi recolocado em estufa por mais 30 minutos, repetindo-se o procedimento até peso constante.

Os resultados foram expressos em percentagem ponderal sobre a quantidade da droga, através da média de três determinações.

2.2.1.4. Determinação do Teor de Extrativos (BUNDESVEREINIGUNG, 1986a)

Cerca de 1,0 g da droga (0,800 - 0,630 mm) exatamente pesado, foi aquecido à fervura com 100,0 g de água durante 10

minutos. Após resfriamento, reconstituiu-se o peso inicial com acréscimo de água e procedeu-se a filtração desprezando-se os 20 ml iniciais. Do restante do filtrado foram pesados exatamente cerca de 20,0 g em pesa-filtro (d.i. 27 mm x 55 mm) previamente tarado, os quais foram evaporados, sob movimentação constante, sobre banho de água fervente. Após evaporação completa, o pesa-filtro foi colocado em estufa a 105°C durante 2 horas, resfriado em dessecador e pesado.

O teor de extrativos (TE) foi calculado em percentual ponderal pela média de três determinações segundo a equação (1):

$$TE = \frac{g \times 500}{p} \quad (1)$$

onde:

g = massa do resíduo seco (g);

p = massa da droga (g).

2.2.1.5. Determinação do Teor de Oleo Volátil

Realizada conforme método I de dosagem de óleos essenciais nas drogas vegetais, por arraste de vapor d'água, especificado na Farmacopéia Brasileira (FARMACOPEIA, 1977), em aparelho Clevenger modificado (VAN OS, 1965).

Foram pesados 50,0 g de flores integras as quais foram colocadas em balão de fundo redondo com 500 ml de água procedendo-se a destilação durante 5 horas (AKISUE, 1971).

Para o cálculo dos resultados foi considerado o volume percentual de óleo volátil presente na droga antes e após

dessecação.

2.2.1.6. **Quantificação de Flavonóides Totais** (BUNDESVEREINIGUNG, 1986b).

Foi pesado exatamente cerca de 0,400 g da droga (0,630-0,800 mm) e transferido para balão de fundo redondo de 100 ml acrescentando-se 1 ml de hexametilenotetramina 0,5% (m/V), 20 ml de acetona R e 2 ml de ácido clorídrico R. A mistura foi aquecida em banho de água, sob refluxo, durante 30 minutos e filtrada para balão volumétrico de 100 ml através de pequena quantidade de algodão. O resíduo da droga e o algodão foram lavados com duas porções de 20 ml de acetona, aquecendo-se à fervura, sob refluxo, durante 10 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente as soluções foram filtradas, através de algodão, para o balão volumétrico, completando-se o volume com acetona. Em funil de separação, 20,0 ml da solução foram tratados com 20 ml de água e extraídos com 15 ml de acetato de etila R. Este procedimento foi repetido, por três vezes, com porções de 10 ml de acetato de etila. As fases acetato de etila, após serem reunidas e lavadas em funil de separação com duas porções de 50 ml de água, foram transferidas para balão volumétrico de 50 ml, completando-se o volume com acetato de etila (solução-mãe; (SM)).

A 10,0 ml de SM foi adicionado 1,0 ml de cloreto de alumínio SR, diluindo-se a 25,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-amostra; (SA)). Concomitantemente, 10,0 ml da SM foram diluídos a 25,0 ml com solução metanólica de

ácido acético SR (solução-comparativa; (SC)). Após 30 minutos, foi medida a absorvância da SA a 425 nm, em cubeta com 1,00 cm de espessura, contra SC.

O resultado, expresso em percentual ponderal de flavonóides totais, calculado como quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$), pela média de três determinações, foi baseado na extinção específica da mesma, $E_{1cm}^{1\%} = 500$, segundo a equação (2):

$$CFT = \frac{A \cdot 62500}{500 \cdot m \cdot (100 - t)} \quad (2)$$

onde:

CFT = concentração de flavonóides totais calculados como quercetina (% ; m/m);

A = absorvância medida na amostra;

m = massa da droga (g);

t = perda por dessecação (%; m/m).

2.2.2. PREPARAÇÃO DOS PRODUTOS INTERMEDIARIOS

2.2.2.1. Extrato Hidroalcoólico (SONAGLIO, 1987)

Primeiramente foi efetuada a caracterização do etanol comercial 96^oGL segundo métodos prescritos pela Farmacopéia americana, 21^aed. (THE UNITED, 1985). Após, foi procedida a preparação de etanol 80% (V/V) a partir do etanol comercial 96^oGL, diluindo-se a quantidade necessária do álcool de partida com água.

2.2.2.1.1. Preparação (Figura 3)

Para a preparação do extrato hidroalcoólico foram realizadas sete séries de dois macerados, cada um originado de 150,0 g da droga vegetal e 2000 ml de etanol 80% (V/V). O tempo de maceração foi de oito dias ao abrigo da luz, com agitação ocasional. Após este tempo, os macerados de cada série foram filtrados através de papel de filtro e os marcos prensados individualmente em prensa hidráulica manual. As micelas provenientes das macerações concomitantes foram reunidas (extrato parcial; (Ep)) e filtradas reservando-se alíquotas de 150 ml ($A_1 - A_7$).

2.2.2.1.2. Caracterização

2.2.2.1.2.1. Análise cromatográfica

Alíquotas de 100 μ l de cada extrato hidroalcoólico parcial (Ep) foram submetidas a cromatografia em papel conforme metodologia descrita em 2.2.1.2.2. (p.45) empregando-se como substâncias-referência a quercetina, a 3-O-metilquercetina, a luteolina e o ácido cafeico.

2.2.2.1.2.2. Determinação da densidade

Foi determinada com auxílio de areômetro a 25°C.

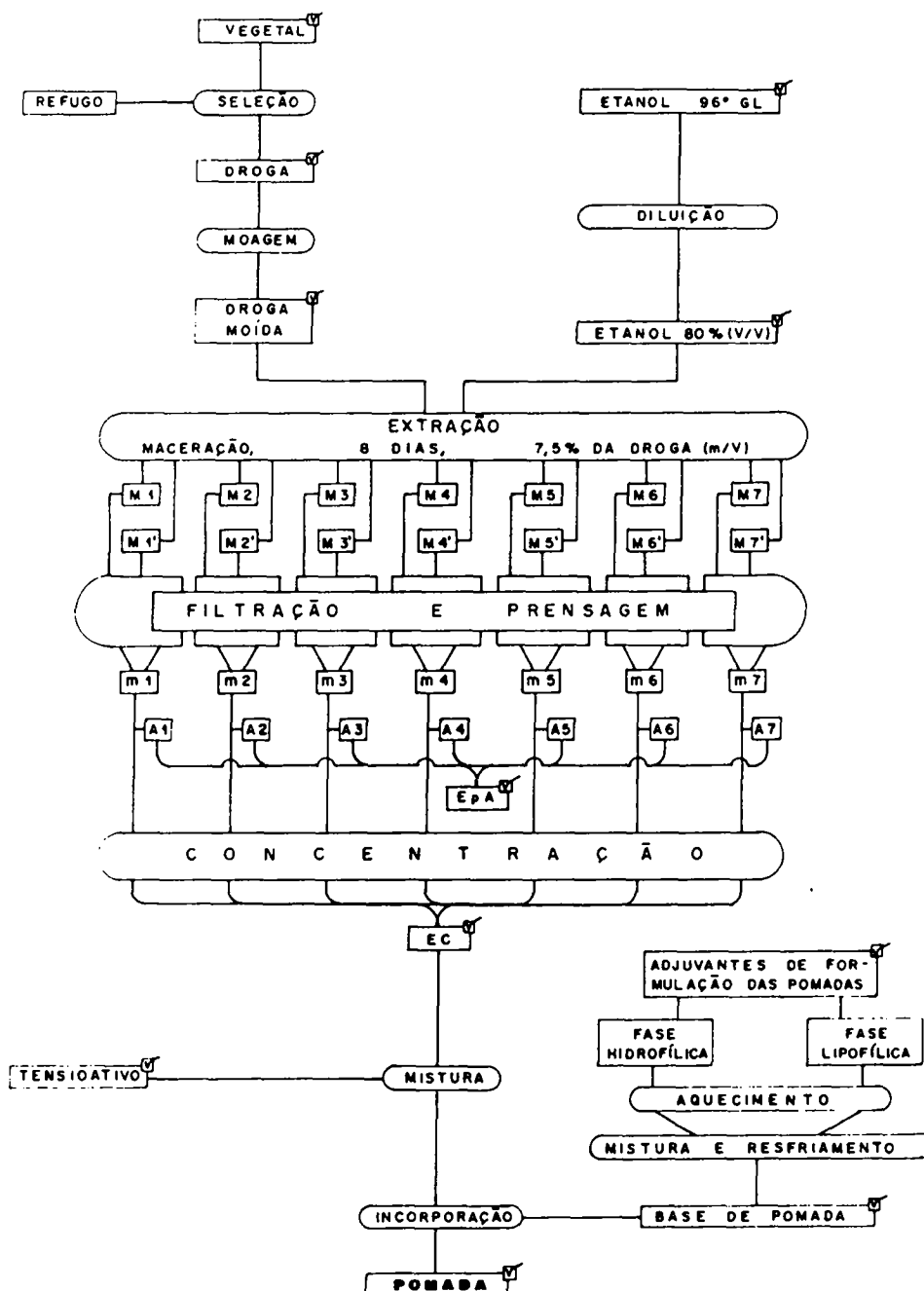


FIGURA 3 - Esquema geral de obtenção de pomada contendo extrato vegetal de *Achyrocline satureioides*. M 1-7 = macerado; m 1-7 = micelas; A 1-7 = alíquotas; EpA = extrato parcial amostra; EC = extrato concentrado (explicação vide texto).

2.2.2.1.2.3. Determinação do pH

Foi realizada em potenciômetro calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

2.2.2.1.2.4. Quantificação de quercetina

Para obtenção das curvas-padrão pelo método direto (UV direto) e cromatografia em papel associada à espectrofotometria no ultravioleta (CP/UV) foram preparadas soluções metanólicas de quercetina nas concentrações de 0,20; 0,40; 0,60; 0,80; 1,00 e 1,20 mg/ml.

Na determinação quantitativa por cromatografia em papel/espectrofotometria no ultravioleta (Método CP/UV) foram aplicados 100,0 μ l das soluções-padrão e amostra na forma de linha de 5 cm de comprimento, sobre suporte de papel, com auxílio de microsseringa de 100 μ l de capacidade. Após o desenvolvimento dos cromatogramas com ácido acético 40 % , as zonas correspondentes à quercetina (padrão e amostras) foram recortadas picotadas, colocadas em balão de fundo redondo e tratadas com 5 ml de metanol, sob refluxo em banho de água, durante 15 minutos. Após resfriamento, as soluções foram transferidas para balão volumétrico de 10 ml completando-se o volume com o mesmo solvente. As leituras das absorvâncias foram efetuadas em espectrofotômetro a 255 nm.

Paralelamente, 100,0 μ l das soluções-padrão foram diluídas a 10,0 ml com metanol, determinando-se as absorvâncias no mesmo comprimento de onda.

A concentração de quercetina corresponde a média de três determinações e foi calculada a partir da equação da reta determinada pela curva padrão corrigida, através da equação (3):

$$CQ = \frac{(A \cdot fc) - a}{b} \cdot fd \cdot 0,001 \quad (3)$$

onde:

CQ = concentração de quercetina na amostra (mg/ml);

A = absorvância medida;

fc = fator de correção (0,8134);

a = intersecção com o eixo y;

b = inclinação da reta;

fd = fator de diluição (100).

2.2.2.1.2.5. Validação do método CP/UV

A avaliação do tempo necessário para extração de quercetina dos cromatogramas foi feita submetendo-se alíquotas de 100,0 μ l de solução padrão de quercetina a 1,20 mg/ml ao método CP/UV descrito no item 2.2.2.1.2.4. (p.52) no qual foram utilizados sucessivamente 15; 30; 45 e 60 minutos como tempo de extração de quercetina, sob refluxo em banho de água.

Para a avaliação da absorção do papel foram recortados 16; 36; 64; e 100 cm^2 , respectivamente 0,1299; 0,2923; 0,5198 e 0,8120 g de papel filtro (81,21 g/m^2), submetido às condições cromatográficas descritas no item 2.2.1.2.2.(p.45). Cada área de papel foi picotada, colocada em balão de fundo redondo e tratada

com 5 ml de metanol, sob refluxo em banho de água, durante 15 minutos. Após resfriamento, a solução foi transferida para balão volumétrico de 10 ml completando-se o volume com o mesmo solvente e efetuando-se a leitura da absorvância a 255 nm.

Os resultados correspondem a média de quatro determinações e para a validação dos mesmos foram analisados estatisticamente os valores das absorvâncias obtidas.

O cálculo do fator de correção foi baseado nos valores de absorção obtidos nas curvas-padrão de quercetina pelo método direto e cromatografia em papel associada à espectrofotometria no ultravioleta (CP/UV), conforme metodologia descrita em 2.2.2.1.2.4.(p.52) e nos valores de absorção da fase estacionária utilizada nestas cromatografias em papel. Para esta determinação o papel de filtro foi submetido às mesmas condições cromatográficas empregadas para a obtenção da curva padrão pelo método CP/UV. Após, foram recortadas áreas correspondentes àquelas obtidas para as soluções-padrão, cada qual sendo tratada conforme descrito na avaliação da absorção do papel e determinando-se as absorvâncias em 255 nm. Os resultados correspondem a média de três determinações. Para o cálculo do fator de correção foi utilizada a equação (4):

$$F_c = \frac{\sum (A_{CP/UV} - A_B)}{\sum A_{UV}} \quad (4)$$

onde:

- $A_{CP/UV}$ = absorvância de quercetina pelo método CP/UV;
- A_B = absorvância do papel de filtro ;
- A_{UV} = absorvância de quercetina diretamente por ultravioleta.

2.2.2.2. Extrato Parcial Amostra

2.2.2.2.1. Preparação (Figura 3)

As sete alíquotas de 150 ml oriundas dos diversos extratos parciais foram reunidas formando o extrato parcial amostra (EPA).

2.2.2.2.2. Caracterização

2.2.2.2.2.1. Análise cromatográfica

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.1. (p.50).

2.2.2.2.2.2. Determinação da densidade

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.2. (p.50).

2.2.2.2.2.3. Determinação do pH

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.3. (p.52).

2.2.2.2.2.4. Determinação do teor alcoólico (FARMACOPEIA, 1988)

Foi realizada de acordo com o método II da destilação sendo o teor alcoólico determinado pela densidade do destilado a 25°C com auxílio de picnômetro e de tabela alcoométrica.

O resultado foi fornecido em percentual volumétrico a 15,56°C.

2.2.2.2.2.5. Determinação do resíduo seco (HARTKE, MUTSCHLER, 1987)

Foram pesados exatamente cerca de 20,0 g de extrato hidroalcoólico em pesa-filtro (d.i. 27 mm x 55 mm) previamente tarado e evaporados, sob movimentação constante, sobre banho de água fervente. Após evaporação completa, o pesa-filtro foi colocado em estufa a 105°C durante 2 horas, resfriado em dessecador e pesado.

O resultado foi calculado em relação a 100,0 g do extrato, pela média de três determinações.

2.2.2.2.2.6. Quantificação de quercetina

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.4. (p.52).

2.2.2.2.2.7. Quantificação de flavonóides totais

Cerca de 4 g do extrato parcial amostra exatamente pesados, foram transferidos para balão de fundo redondo, acres-

centando-se 1 ml de hexametilenotetramina 0,5% (m/V), 20 ml de acetona R e 2 ml de ácido clorídrico R. A mistura foi aquecida em banho de água, sob refluxo, durante 30 minutos. Após resfriamento à temperatura ambiente, a solução foi transferida para balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com acetona. Em funil de separação, 20,0 ml da solução foram tratados com 20 ml de água e extraídos com 15 ml de acetato de etila R. Este procedimento foi repetido, por três vezes, com porções de 10 ml de acetato de etila. As fases acetato de etila, após serem reunidas e lavadas em funil de separação com duas porções de 50 ml de água, foram transferidas para balão volumétrico de 50 ml, completando-se o volume com acetato de etila (solução-mãe; (SM)).

A 10,0 ml da SM foi adicionado 1,0 ml de cloreto de alumínio SR, diluindo-se a 25,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-amostra; (SA)). Concomitantemente, 10,0 ml da SM foram diluídos a 25,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-comparativa; (SC)). Após 30 minutos, foi medida a absorvância da SA a 425 nm, em cubeta de 1,00 cm de espessura, contra SC.

O resultado, expresso em percentual ponderal de flavonóides totais, calculado como quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$), pela média de três determinações, foi baseado na extinção específica da mesma, $E_{1cm}^{1\%} = 500$, segundo a equação (5):

$$CFT = \frac{A \cdot 625}{500 \cdot m} \quad (5)$$

onde:

CFT = concentração de flavonóides totais calculados como quercetina (%; m/m);

A = absorvância medida;

m = massa do extrato (g).

Como dado adicional foi avaliada a relação entre o tempo de reação e a absorvância após exatamente 30, 45, 60, 75, 90 e 105 minutos.

2.2.2.3. Extrato Concentrado (EC)

2.2.2.3.1. Preparação (Figura 3)

Os extratos parciais de cada série foram concentrados separadamente em evaporador rotatório sob banho de água a temperatura máxima de 70°C. Os concentrados foram reunidos resultando num produto com massa de aproximadamente 266 g.

2.2.2.3.2. Avaliação

2.2.2.3.2.1. Análise cromatográfica

Exatamente cerca de 0,1 g do EC foi diluído a 10,0 ml com etanol 80% (V/V). A solução resultante foi submetida à cromatografia em papel conforme metodologia descrita no item 2.2.1.2.2. (p.45) empregando-se como substâncias-referência a quercetina, a 3-O-metilquercetina, a luteolina e o ácido cafeico.

2.2.2.3.2.2. Determinação do pH

O extrato concentrado foi diluído a 10% (m/V) em água e em etanol 80 % (V/V) e as determinações do pH foram efetuadas conforme descrito em 2.2.2.1.2.3.(p.52).

2.2.2.3.2.3. Determinação da perda por dessecação (HARTKE, MUTSCHLER, 1987)

Foi pesado exatamente cerca de 1,0 g do extrato em pesa-filtro (d.i. 27 mm x 55 mm), previamente tarado, o qual foi colocado em estufa a 105°C durante 2 horas. Após, foi resfriado em dessecador e pesado.

O resultado foi calculado em relação a 100,0 g do extrato, pela média de três determinações.

2.2.2.3.2.4. Quantificação de quercetina

Exatamente cerca de 0,2 g do KC foi pesado em balão volumétrico de 25 ml e dissolvido em etanol 80% (V/V). Após, o volume foi completado com o mesmo solvente.

Aliquotas de 100,0 µl da solução resultante foram submetidas à quantificação de quercetina conforme metodologia descrita para o extrato hidroalcoólico no item 2.2.2.1.2.4. (p.52). A concentração de quercetina foi calculada a partir da equação da reta determinada pela curva padrão corrigida, através da equação (6):

$$CQ = \frac{(A \cdot fc) - a}{b \cdot Aa} \cdot fd \cdot 0,001 \quad (6)$$

onde:

CQ = concentração de quercetina na amostra (mg/g);

A = absorvância medida;

fc = fator de correção (0,8134);

a = intersecção com o eixo y;

b = inclinação da reta;

Aa = alíquota da amostra (g);

fd = fator de diluição (2500).

2.2.2.3.2.5. Quantificação de flavonóides totais

Cerca de 5,0 mg do EC exatamente pesados, foram submetidos à metodologia descrita no item 2.2.2.2.2.7. (p.56).

2.2.2.3.2.6. Avaliação microbiológica (KOLLING, SCHAPOVAL, 1984; FARMACOPEIA, 1988)

Os ensaios foram realizados em câmara de fluxo laminar, utilizando-se meios de cultura extemporâneos, esterilizados imediatamente antes do uso. A vidraria foi esterilizada em estufa a 110°C, durante 2 horas e os diluentes e demais soluções e acessórios foram esterilizados em autoclave a 121°C, durante 15 minutos.

Na contagem de microrganismos viáveis totais, para a preparação de tampão cloreto de sódio-peptona pH 7,0 contendo

neutralizantes, foram pesados em erlenmeyer de 250 ml, 3,0 g de polissorbato 80 e 0,3 g de lecitina e dissolvidos em banho de água a 40°C, pela adição de 90,0 ml de tampão cloreto de sódio-peptona, pH 7,0. Para a preparação da amostra foram pesados, assepticamente, 10,0 g de extrato concentrado em gral de porcelana, os quais foram tratados com 10,0 g de polissorbato 20 (BONONI, NEGRETTI, 1977). Após adição de 20,0 ml de tampão cloreto de sódio-peptona, pH 7,0, contendo neutralizante, a mistura foi transferida para erlenmeyer de 250 ml e o volume foi completado a 100,0 ml com o mesmo diluente. Após, foi procedida a homogeneização em agitador magnético.

A partir da diluição na proporção 1:10 (m/V) descrita no parágrafo anterior foram preparadas diluições, em proporções volumétricas, de 1:100, 1:1000, 1:10000 utilizando-se tampão cloreto de sódio-peptona, pH 7,0. Após, foi realizado o plaqueamento das diluições pipetando-se 1,0 ml das mesmas e adicionando-se 20,0 ml do meio de cultura. Para o crescimento de fungos foi utilizado ágar Sabouraud-dextrose e de bactérias, ágar de caseína-soja. Este último foi previamente acidificado com ácido láctico a 30% até pH 3,0, em banho de água a 40°C. As placas foram incubadas em estufa a 37°C, durante 5 dias, para a detecção de bactérias e a 25°C, durante 7 dias, para detecção de fungos. Paralelamente, nas mesmas condições citadas, foram incubadas placas contendo meio de cultura, meio de cultura e diluente, meio de cultura e neutralizante, meio de cultura e polissorbato 20, como branco do ensaio. A contagem de microrganismos foi

feita com auxílio de contador de colônias. O cálculo da média aritmética de cada diluição foi efetuado a partir dos valores obtidos das placas, calculando-se o número de microrganismos por grama, para cada diluição e multiplicando-se o número de colônias da placa pela diluição utilizada. Os resultados foram expressos como Unidades Formadoras de Colônias (UFC).

Na pesquisa e identificação de microrganismos patogênicos, para a preparação de caldo lactose contendo neutralizante, foram pesados, em erlenmeyer de 250 ml, 3,0 g de polissorbato 80 e 0,3 g de lecitina e dissolvidos em banho de água a 40°C, pela adição de 90,0 ml de caldo lactose. A amostra foi preparada de maneira idêntica à descrita para a contagem de microrganismos viáveis totais, utilizando-se porém, caldo lactose como diluente. Após, foi incubada em estufa a 37°C durante 48 horas. A seguir, foram preparadas diluições 1:100 em caldo de caseína-soja e em caldo lactose, incubando-se novamente em estufa a 37°C, durante 24 horas.

A partir das diluições 1:100 procedeu-se à pesquisa em meios seletivos, de células viáveis de *Salmonella sp.*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*, de acordo com o preconizado pela Farmacopéia Brasileira 4^aed.(1988).

2.2.3. BASES DE POMADAS

Foram empregadas base contendo monoestearato de glicerila e a pomada hidrofílica da Farmacopéia Americana 21^a edição (THE UNITED, 1985) modificada, denominada neste trabalho de base

hidrofilica.

2.2.3.1. Caracterização das Matérias-primas

As matérias-primas empregadas foram submetidas a determinações físicas e químicas descritas nas Farmacopéias:

Acido esteárico

resíduo pela incineração (THE UNITED, 1985)

gordura neutra ou parafina (THE UNITED, 1985)

índice de iodo (THE UNITED, 1985)

Acido sórbico

faixa de fusão (THE UNITED, 1985)

equivalente de neutralização (THE UNITED, 1985)

Alcool estearílico

faixa de fusão (THE UNITED, 1985)

índice de acidez (THE UNITED, 1985)

índice de iodo (THE UNITED, 1985)

Lanolina sólida

faixa de fusão (THE UNITED, 1985)

alcalinidade (THE UNITED, 1985)

acidez (THE UNITED, 1985)

índice de iodo (THE UNITED, 1985)

Monoestearato de glicerila

faixa de fusão (THE UNITED, 1985)

índice de acidez (THE UNITED, 1985)

índice de saponificação (THE UNITED, 1985)

Lauril sulfato de sódio

reação A de identificação do sódio e B de identificação do ion sulfato (FARMACOPEIA, 1977)

ensaios fundamentais (FARMACOPEIA, 1977)

cloreto de sódio

sulfato de sódio

Polissorbato 80

reação A de identificação (THE UNITED, 1985)

densidade (THE UNITED, 1985)

índice de acidez (THE UNITED, 1985)

índice de saponificação (BRITISH, 1985)

Propilenoglicol

densidade (FARMACOPEIA, 1977)

acidez (FARMACOPEIA, 1977)

substâncias redutoras (BRITISH, 1985)

Trietanolamina

reação B de identificação (BRITISH, 1980)

densidade (THE UNITED, 1985)

índice de refração (THE UNITED, 1985)

resíduo pela incineração (THE UNITED, 1985)

Vaselina líquida

densidade (FARMACOPEIA, 1977)

viscosidade (FARMACOPEIA, 1977)

limite de compostos polinucleares (FARMACOPEIA, 1977)

Vaselina sólida

densidade (THE UNITED, 1985)

faixa de fusão (THE UNITED, 1985)

consistência (THE UNITED, 1985)

2.2.3.2. Fórmula das bases

Os componentes utilizados na preparação das bases de pomadas estão relacionados na tabela 4.

2.2.3.3. Preparação e Acondicionamento

As bases foram preparadas em câmara de fluxo laminar, utilizando-se técnica usual de preparação de emulsões, dividindo-se os constituintes de acordo com a hidro ou lipossolubilidade e aquecendo-se, independentemente, as duas fases a cerca de 70°C. Após a fusão dos componentes oleosos e a dissolução dos componentes hidrossolúveis, procedeu-se a adição lenta da fase aquosa à fase oleosa, agitando-se, manualmente, até resfriamento.

As bases foram acondicionadas em frascos de polietileno com tampa rosqueável.

TABELA 4 - Componentes utilizados na preparação das bases de pomadas (g).

Componentes	Base	
	Hidrofilica	Monoestearato de glicerila
ácido esteárico	- -	3,30
ácido sórbico	0,10	0,10
água	87,00	62,30
álcool estearílico	25,00	- -
lanolina sólida	- -	1,00
lauril sulfato de sódio	1,00	- -
monoestearato de glicerila	- -	6,20
propilenoglicol	12,00	- -
trietanolamina	- -	1,40
vaselina líquida	- -	11,40
vaselina sólida	25,00	14,30

2.2.3.4. Avaliação

A avaliação das bases de pomadas foi executada dois dias após a preparação.

2.2.3.4.1. Determinação do pH

As bases foram diluídas a 10% (m/V) em água e as determinações do pH foram efetuadas conforme descrito no item 2.2.2.1.2.3. (p.52).

2.2.3.4.2. Determinação da Consistência

Para a determinação da consistência foi utilizado penetrômetro munido de uma haste metálica e um cone padronizado, o qual pesou 102,6 g (Figura 4).

A amostra foi colocada no recipiente de medição evitando-se a inclusão de ar e efetuando-se o nivelamento de sua superfície com auxílio de espátula. O recipiente contendo a amostra foi colocado sobre a mesa do penetrômetro, procedendo-se ao abaixamento do cone até que o ápice do mesmo contactasse com a superfície da amostra. Após zerar a escala, soltou-se a haste do penetrômetro e efetuou-se a leitura da penetração em décimos de milímetros.

O resultado foi calculado a partir da média de seis a oito determinações.

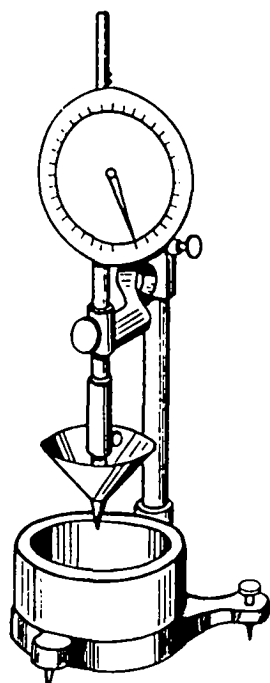


FIGURA 4 - Penetrômetro de cone

2.2.3.4.3. Determinação da Espalhabilidade

Foi empregada metodologia descrita por MUENZEL et al. (1959) com alteração no modo de aplicação da amostra.

Uma placa-molde, circular, de vidro (diâmetro = 20 cm; espessura = 0,2 mm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro, foi colocada sobre placa-suporte de vidro (20 cm x 20 cm). Sob estas placas posicionou-se uma folha de papel milimetrado (figura 5). A amostra foi introduzida no orifício da placa e a superfície foi nivelada com espátula. Após, a placa-molde foi cuidadosamente retirada. Sobre a amostra foi colocada uma placa de vidro de peso pré-determinado. Após 1 minuto foi calculada a superfície abrangida, através da medição do diâmetro em duas posições opostas, com posterior cálculo do diâmetro médio. Este procedimento foi repetido acrescentando-se novas placas, em intervalos de 1 minuto, registrando-se a cada determinação a superfície abrangida e o peso da placa adicionada até a obtenção de valores constantes.

A espalhabilidade (E_i), determinada a 25°C foi calculada através da equação (7):

$$E_i = \frac{d^2 \cdot \pi}{4} \quad (7)$$

onde:

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

d = diâmetro médio (mm).

Os valores da espalhabilidade em função da massa de carga adicionada foram plotados em gráficos e correspondem a média de 3 determinações.

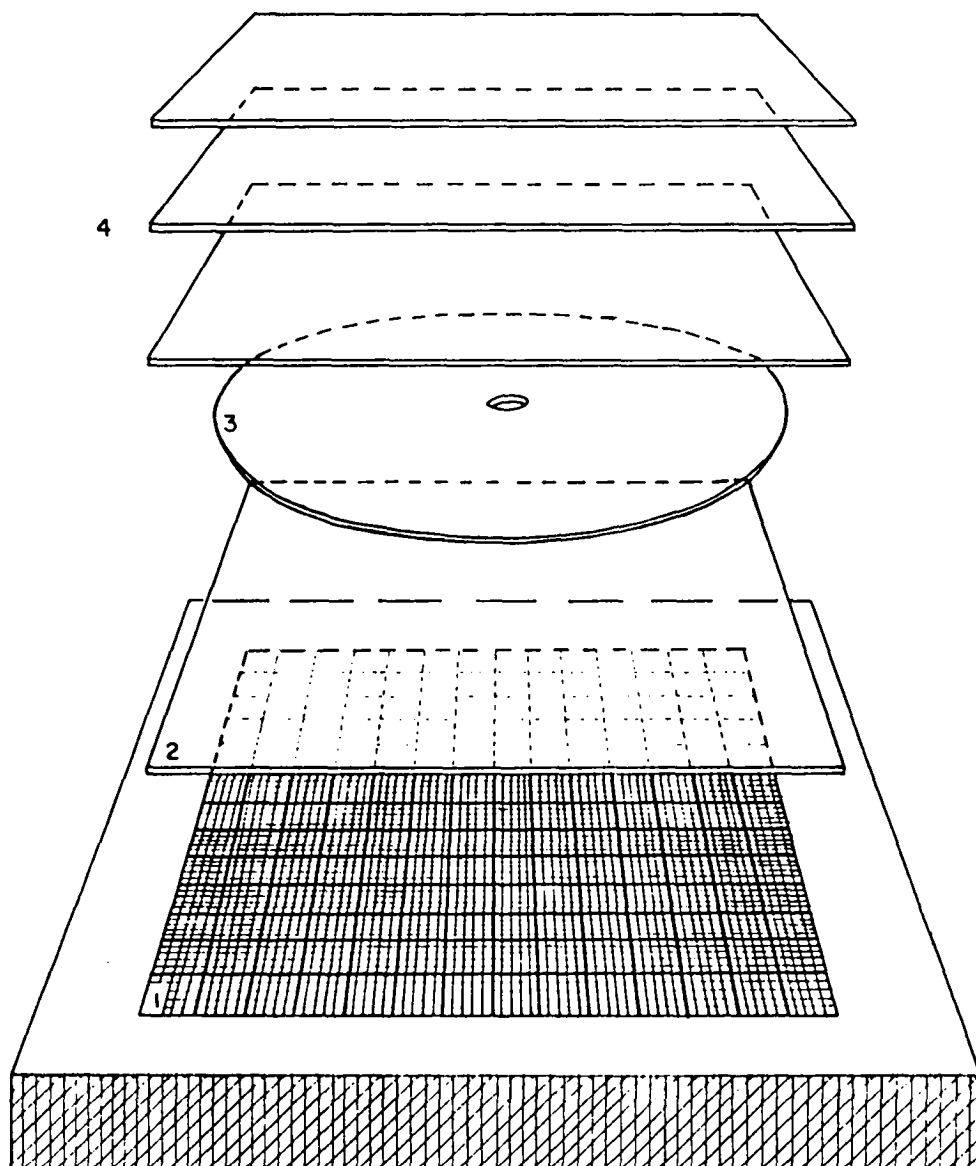


FIGURA 5 - Dispositivo para determinação da espalhabilidade.

(1) papel milimetrado, (2) placa de vidro, (3) placa-molde, (4) placas-carga.

2.2.3.4.4. Determinação do Índice de Oleo

Foi realizada segundo metodologia preconizada por GSTIRNER e BINDE (1966) e modificada por SCHMIDT e SUCKER (1972).

Uma placa-molde, circular, de vidro (diâmetro = 20 cm; espessura = 0,2 mm), com orifício central de 1,2 cm de diâmetro, foi colocada sobre o centro de papel de filtro circular (diâmetro = 12,5 cm) Wahtman n^o 1, previamente tarado.

Após cisalhamento durante três minutos, com auxílio de gral e pistilo, a amostra foi introduzida no orifício da placa e a superfície foi nivelada com espátula. O papel de filtro foi separado da placa-molde com auxílio de uma pinça e colocado sobre placa de petri em estufa a 30^oC, durante 24 horas. Após resfriamento em dessecador, procedeu-se a pesagem do papel com e sem a amostra.

A quantidade de óleo liberado foi calculada em percentual ponderal e corresponde a média de três determinações.

2.2.3.4.5. Avaliação Reológica

As características reológicas das amostras foram avaliadas com auxílio de viscosímetro rotativo, utilizando-se conjunto de medição Pk2 (cone-placa) e cabeça de medição 50, acoplado a banho de água termostaticado circulante a 25^oC. Para estas condições, os valores do fator de viscosidade do corpo de medição (V), fator de empuxo (E) e fator de cisalhamento (C) foram respectivamente 2,14, 22,3 e 1040.

Um minuto após ajuste de cada fator de velocidade (U)

foi efetuada a leitura do valor da escala do aparelho (S). O valor de S foi calculado pela média de seis a oito determinações. A viscosidade, tensão de cisalhamento e gradiente de cisalhamento foram calculados segundo as equações (8), (9) e (10), respectivamente:

$$\eta = U.S.V \quad (8)$$

onde:

η = viscosidade (mPa.s);

U = fator de velocidade (número de rotações);

S = valor de escala;

V = fator de viscosidade do corpo de medição.

$$\tau = S . E \quad (9)$$

onde:

τ = tensão de cisalhamento (Pa);

E = fator de empuxo.

$$D = \frac{C}{U} \quad (10)$$

onde:

D = gradiente de cisalhamento (s^{-1});

C = fator de cisalhamento.

Os reogramas foram obtidos pela representação gráfica do gradiente de cisalhamento (D) em função da tensão de cisalhamento (τ).

O ponto de fluidez teórico (τ_t) foi obtido graficamente através da representação da raiz quadrada do gradiente de cisalhamento (D) em função da raiz quadrada da tensão de cisalhamen-

to (τ) de acordo com a equação de Casson (11) (NORO et al., 1982):

$$\sqrt{\tau} = K + K' \cdot \sqrt{D} \quad (11)$$

onde:

K = intersecção com o eixo de τ quando $D = 0$;

K' = inclinação da reta

logo,

$$\tau_1 = K \quad \text{quando} \quad D = 0$$

O grau de tixotropia foi calculado através da área entre as curvas do reograma (AEC) e pela avaliação gráfica de $D = f(\tau)$, (NORO et al., 1982). Neste procedimento foi representado esquematicamente o aumento da velocidade de cisalhamento de zero a velocidade máxima (s^{-1}), curva ascendente do reograma, (lado direito do gráfico) e o decréscimo da velocidade máxima a zero (s^{-1}), curva descendente do reograma (lado esquerdo do gráfico) (figura 6). Os valores inicial, intermediário e final da representação gráfica da aplicação do gradiente de cisalhamento foram denominados respectivamente de A, B e C e os pontos médios das curvas AB e BC de M e N. As tangentes das curvas foram traçadas sendo calculados os pontos M e N e as inclinações das retas (a e b).

O grau de tixotropia (a/b) foi determinado através da equação (12):

$$\frac{a}{b} = \frac{\overline{X1 B}}{\overline{B X3}} \quad (12)$$

onde:

$\overline{X1B}$ = inclinação de $\overline{X1B}$;

$\overline{BX3}$ = inclinação de $\overline{BX3}$.

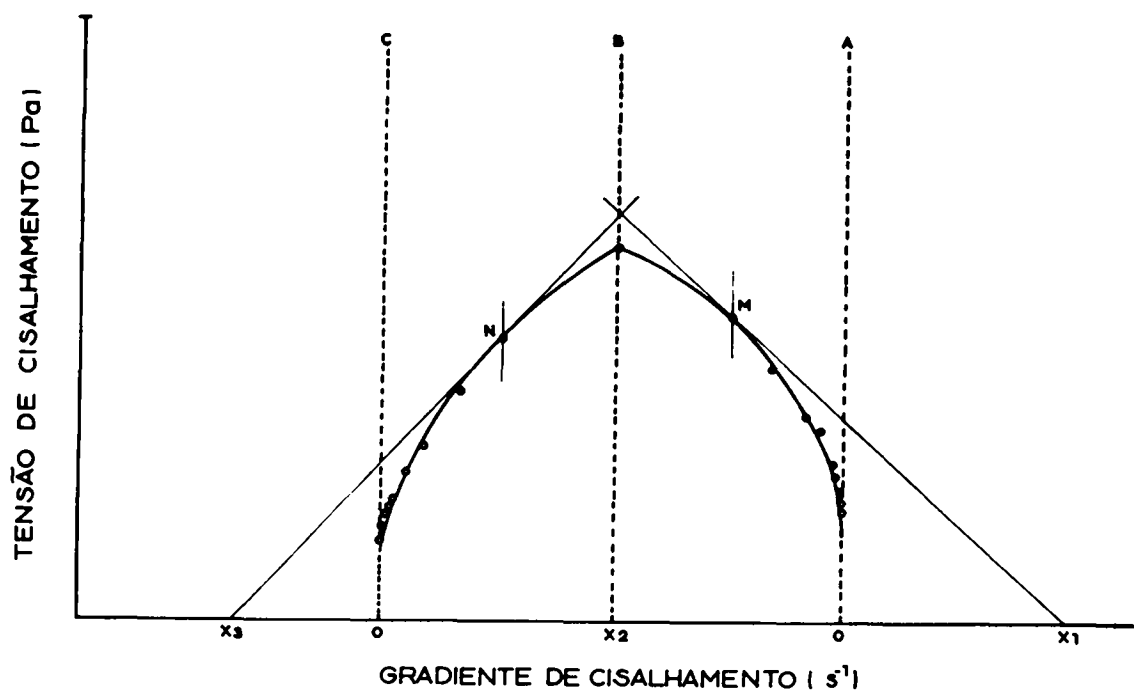


FIGURA 6 - Representação esquemática para análise do reograma.

2.2.3.4.6. Avaliação Microbiológica

Após ser procedida a limpeza da embalagem com ácido clorídrico 1% em etanol 80% (V/V), 30 g da amostra foram homogeneizadas em gral de porcelana. A seguir, 20,0 g da mesma foram pesados, assepticamente, em erlenmeyer de 250 ml, acrescentando-se 1,0 ml de vaselina líquida e 1,0 ml de polissorbato 80. O volume foi completado a 100 ml com tampão cloreto de sódio-peptona, pH 7,0, contendo neutralizantes o qual foi preparado conforme descrito no item 2.2.2.3.2.6.(p.60). A mistura foi homogeneizada em agitador magnético para inativação do sistema conservante. A partir desta diluição na proporção 1:10, foi procedida a avaliação microbiológica de acordo com a metodologia e as condições descritas no item 2.2.2.3.2.6.(p.60).

2.2.4. POMADAS

2.2.4.1. Pomada-referência de Quercetina

2.2.4.1.1. Preparação

Foram preparadas pomadas contendo quercetina tratada com 14,15% (m/m) de polissorbato 80, incorporada a frio à base de pomada nas concentrações de 3,0; 6,0; 9,0 e 12,0 mg de quercetina/g de base.

A quercetina foi homogeneizada com tensoativo e após, foi procedida sua incorporação à base de pomada com auxílio de

gral e pistilo, sob agitação.

2.2.4.1.2. Determinação Quantitativa de Quercetina

Em copo de béquer de 50 ml foi pesado exatamente cerca de 1,0 g de pomada. Após, foram acrescentados 10 ml de etanol e foi procedido o aquecimento em banho de água até fusão da base. A solução foi centrifugada durante 5 minutos a 3000 rotações por minuto. O sobrenadante foi filtrado através de papel de filtro para balão volumétrico de 50 ml e o sedimento foi submetido, por duas vezes, ao procedimento anteriormente descrito. Os filtrados foram reunidos e o volume foi completado com etanol.

Aliquotas de 200,0 μ l da solução resultante foram submetidas à quantificação de quercetina pelo método CO/UV, conforme metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.4. (p.52) porém, a extração sob refluxo foi efetuada com 3 ml de metanol e o volume final foi completado a 5,0 ml.

A concentração de quercetina foi calculada a partir da equação (6), considerando-se 1250 como valor do fator de diluição.

2.2.4.2. Pomadas Contendo Extrato Concentrado (Figura 3)

2.2.4.2.1. Preparação e Acondicionamento

Em capela de fluxo laminar, o extrato concentrado foi homogeneizado, manualmente, com polissorbato 80 na proporção de 14,15% (m/m). A seguir, o mesmo foi incorporado na proporção de

18,84% (m/m), a frio, às bases de pomada, sob agitação com auxílio de gral e pistilo, até perfeita incorporação. De acordo com a base empregada, as pomadas obtidas foram denominadas de pomada monoestearato de glicerila (pomada MEG) e pomada hidrofílica. As mesmas foram acondicionadas em tubos de alumínio, revestidos internamente com resina epóxido, na quantidade de 10 g/tubo e fechadas por dobradura triplíce.

2.2.4.2.2. Avaliação

As pomadas foram avaliadas dois dias após a preparação.

2.2.4.2.2.1. Determinação do pH

As pomadas foram diluídas a 10% (m/V) em água e as determinações do pH foram efetuadas conforme descrito no item 2.2.2.1.2.3. (p.52).

2.2.4.2.2.2. Determinação da espalhabilidade

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.3.4.3. (p.68).

2.2.4.2.2.3. Determinação do índice de óleo

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.3.4.4. (p.70).

2.2.4.2.2.4. Avaliação reológica

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.3.4.5. (p.70).

2.2.4.2.2.5. Avaliação qualitativa

As pomadas, submetidas à metodologia descrita no item 2.2.4.1.2. (p.75) foram avaliadas através do perfil cromatográfico, empregando como substâncias-referência a quercetina a 3-OH-metilquercetina a luteolina e o ácido cafeico.

2.2.4.2.2.6. Determinação quantitativa de quercetina

De acordo com a metodologia descrita no item 2.2.4.1.2. (p.75).

2.2.4.2.2.7. Avaliação microbiológica

Para a preparação da amostra foram separadas, aleatoriamente, três embalagens sendo procedida a limpeza das mesmas com algodão embebido em solução de ácido clorídrico 1% em etanol 80% (V/V). O conteúdo das mesmas foi homogeneizado em gral de porcelana e 10,0 g da amostra foram pesados, assepticamente, em erlenmeyer de 250 ml. Após serem acrescentados 1,0 ml de vaselina líquida e 1,0 ml de polissorbato 80, o volume foi completado a 100 ml com tampão cloreto de sódio peptona pH 7,0 contendo neutralizantes, o qual foi preparado conforme item 2.2.2.3.2.6. (p.60). A mistura foi homogeneizada em agitador magnético para inativação do sistema conservante. A partir desta diluição na proporção 1:10 foi procedida a avaliação microbiológica de acordo com a metodologia e as condições descritas no item 2.2.2.3.2.6.(p.60).

2.2.4.2.2.8. Determinação da biodisponibilidade

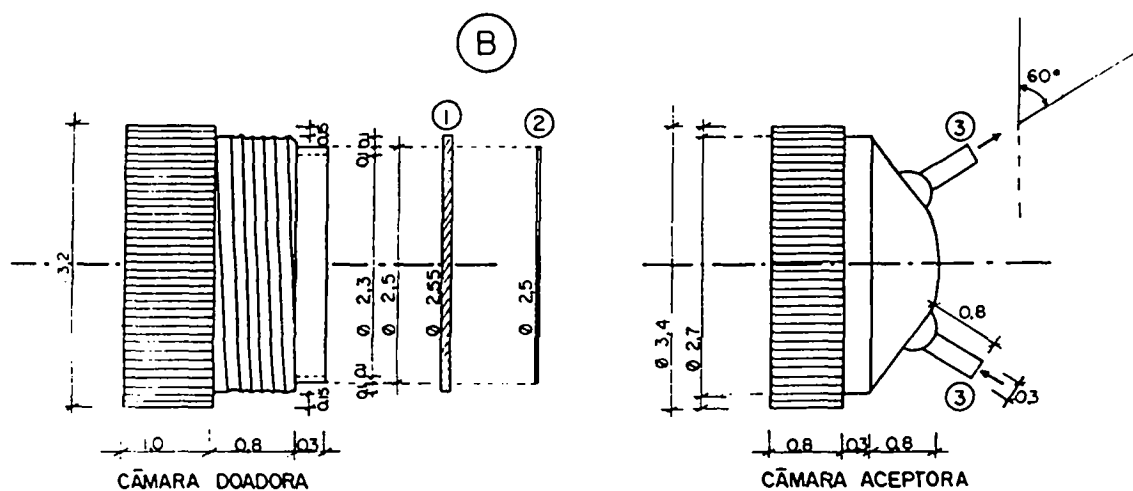
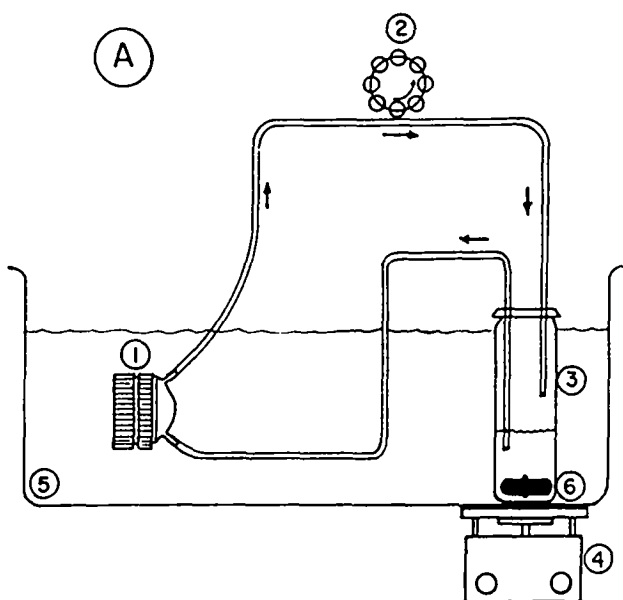
Para a avaliação da cedência "in vitro" foi desenvolvido um dispositivo de liberação (Figura 7 B) que consiste de duas câmaras de polipropileno (SX 0002500 MILLIPORE) separadas por uma membrana de éster de celulose de $0,45 \mu\text{m}$ de porosidade e 25 mm de diâmetro (MILLIPORE HAWP 025 00). Uma das câmaras (câmara doadora) conteve a pomada e a outra (câmara aceptora) conteve a fase aceptora (meio de cedência) que circulou através de tubo de tygon mediante o auxílio de bomba peristáltica, em sistema fechado (Figura 7 A).

Foi pesado exatamente cerca de 1,0 g de pomada na câmara doadora, nivelando-se a superfície com auxílio de espátula. O meio de cedência, constituído por 8 ml de água, foi colocado no recipiente coletor de vidro âmbar, de boca larga, dotado de tampa plástica perfurada (Figura 7 C) e mantido sob agitação e a temperatura de $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ com auxílio de banho de água termostatisado (Fig. 7 A).

A velocidade de fluxo foi regulada em 100 ml/h, efetuando-se coletas de 1 ml da fase aceptora a cada hora, durante 10 horas e repondo-se o volume com o meio de cedência após cada coleta.

Para a quantificação de quercetina alíquotas de $600 \mu\text{l}$ do eluato provenientes de cada hora de amostragem foram submetidas a metodologia descrita no item 2.2.2.1.2.4. (p.52) sendo que, a extração sob refluxo foi efetuada com 3 ml de metanol e o volume final foi completado de maneira a perfazer 5,0 ml.

- ① CÉLULA DE CEDÊNCIA
- ② BOMBA PERISTÁLTICA
- ③ RECIPIENTE COLETOR
- ④ AGITADOR MAGNÉTICO
- ⑤ BANHO DE ÁGUA TERMOSTATIZADO
- ⑥ BASTÃO COM MAGNETO



- ① ANEL DE VEDAÇÃO
- ② MEMBRANA DE DIFUSÃO
- ③ CONEXÕES DE ENTRADA E SAÍDA DO MEIO DE CEDÊNCIA

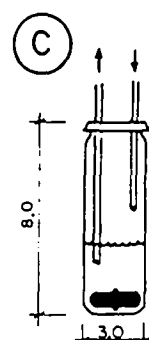


FIGURA 7 - Esquema do aparelho de cedência. (A) esquema geral, (B) célula de cedência, (C) recipiente coletor (dimensões em cm).

A concentração de quercetina foi calculada a partir da equação da reta determinada pela curva padrão corrigida, através da equação (13) e levando em consideração as alíquotas coletadas em cada tempo de amostragem.

$$CQ = \frac{(A \cdot fc) - a}{b} \quad (13)$$

onde:

CQ = concentração de quercetina na amostra ($\mu\text{g/ml}$);

A = absorvância medida;

fc = fator de correção (0,8134);

a = intersecção com o eixo y;

b = inclinação da reta.

2.2.4.2.2.9. Estudo preliminar da estabilidade

Amostras de 10,0 g da pomada monoestearato de glicerila, preparada conforme descrito em 2.2.4.2.1. (p.75), foram acondicionadas em tubos de alumínio, revestidos internamente com resina epóxido e fechadas por dobradura triplíce. A seguir, foram submetidas às temperaturas de 25°C, 35°C e 45°C em estufas termostatizadas e a temperatura ambiente (20 + 2°).

Devido a impossibilidade de avaliação simultânea das amostras, aquelas submetidas às temperaturas de 35°C e 25°C foram primeiramente armazenadas em temperatura de refrigeração (4°C) durante, respectivamente, 1 e 2 dias.

A pomada foi avaliada nos tempos zero (24 horas após a

preparação), 3, 6, 10 e 14 dias de armazenamento, através da determinação das características reológicas (item 2.2.3.4.5., p.70), espalhabilidade (item 2.2.3.4.3., p.68), quantificação de quercetina (item 2.2.4.2.2.6., p.75) e determinação da biodisponibilidade através da quantificação de flavonóides totais. Para esta determinação foram empregadas as mesmas condições experimentais descritas no item 2.2.4.2.2.8. (p.78) e para o doseamento de flavonóides totais, alíquotas de 1,0 ml do eluato, provenientes de cada hora de amostragem da determinação da biodisponibilidade, foram tratadas com 1 ml de acetona R, 0,5 ml de hexametilenotetramina 0,5% (m/V) e 1 ml de ácido clorídrico R. A mistura foi aquecida em banho de água, sob refluxo, durante 30 minutos e então, transferida para balão volumétrico de 5 ml completandose o volume, após resfriamento, com acetona. Em funil de separação a solução foi tratada com 5 ml de água e após, foram efetuadas três extrações com porções de 10 ml de acetato de etila R. As fases acetato de etila foram reunidas, lavadas em funil de separação com duas porções de 30 ml de água e concentradas em evaporador rotatório até aproximadamente 2 ml. Após, a solução concentrada foi transferida para balão volumétrico de 5 ml completandose o volume com acetato de etila (solução-mãe; (SM)).

A 2,0 ml da SM adicionou-se 1,0 ml de cloreto de alumínio SR diluindo-se a 5,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-amostra; (SA)). Concomitantemente, 2,0 ml de SM foram diluídos a 5,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-comparativa; (SC)). Após 30 minutos, foram medidas

as absorvâncias da SA a 425 nm, em cubeta com 1,00 cm de espesura, contra SC.

O resultado foi baseado na extinção específica da quercetina $E_{1\text{cm}}^{\%} = 500$, segundo a equação (14) e levando em consideração as alíquotas coletadas em cada tempo de amostragem.

$$\text{CFT} = \frac{A \cdot 12500}{50} \quad (14)$$

onde:

CFT = concentração de flavonóides totais calculados como quercetina ($\mu\text{g/ml}$);

A = absorvância medida.

Alíquota de 100 μl do eluato coletado na décima hora da determinação da biodisponibilidade foi submetido à cromatografia em papel conforme metodologia descrita em 2.2.1.2.2. (p.45).

Para a validação da determinação quantitativa de flavonóides totais foram utilizados 5,0 ml do eluato da décima hora da determinação da biodisponibilidade da pomada monoestearato de glicerila, os quais foram tratados com 10 ml de acetona R, 1 ml de hexametilenotetramina 0,5 % (m/V) e 2 ml de ácido clorídrico R. A mistura foi aquecida em banho de água, sob refluxo, durante 30 minutos e transferida para balão volumétrico de 25 ml completando-se o volume, após resfriamento, com acetona. Em funil de separação a solução foi tratada com 25 ml de água e após, foram efetuadas três extrações com porções de 20 ml de acetato de etila R. As fases acetato de etila foram reunidas, lavadas em funil de

separação com duas porções de 60 ml de água e concentradas em evaporador rotatório até aproximadamente 15 ml. Após, transferiu-se para balão volumétrico de 25 ml completando-se o volume com acetato de etila (solução-mãe; (SM_1)).

A partir da SM_1 foram preparadas diluições a 20; 40; 60 e 80% (V/V), em balões volumétricos de 5 ml, utilizando-se acetato de etila como diluente (soluções-mãe; (SM_2)).

Para 2,0 ml de cada SM_1 e SM_2 foi adicionado 1,0 ml de cloreto de alumínio SR diluindo-se a 5,0 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-amostra; (SA)). Concomitantemente, 2,0 ml de cada SM_1 e SM_2 foram diluídos a 25 ml com solução metanólica de ácido acético SR (solução-comparativa; (SC)). Após 30 minutos, foram medidas as absorvâncias das SA a 425 nm, em cubeta de 1,0 cm de espessura, contra as respectivas SC.

O método foi validado pela análise estatística das absorvâncias das soluções-amostra.

2.2.5. CALCULOS ESTATISTICOS

Os cálculos estatísticos foram utilizados para descrição do comportamento individual das variáveis em estudo (médias, desvios padrões, coeficiente de variação) e para análise de pares de variáveis entre os quais supunha-se haver dependência linear. Para tanto, foram calculados os coeficientes de regressão linear e a correlação linear de Pearson (r), testando-se as hipóteses através da distribuição t de Student.

A comparação entre as médias de amostras independentes

foi feita utilizando-se igualmente a distribuição t.

Os cálculos referentes à regressão linear, correlação linear de Pearson (r) e teste t, tanto para correlação como para a diferença entre as médias de duas amostras independentes, foram elaborados utilizando-se os programas, em linguagem BASIC, desenvolvidos em calculadora PC-1211-RP da Sharp, por SONAGLIO (1987).

Para a determinação das equações de espalhabilidade foi empregado o programa Analisador de Pontos V2.1-AP2, desenvolvido por Leonardo Grivot Gick do Departamento de Matemática Pura e Aplicada do Instituto de Matemática da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3. RESULTADOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DAS MATERIAS-PRIMAS

3.1.1. MATERIA-PRIMA VEGETAL

3.1.1.1. Caracterização Botânica

TABELA 5 - Caracterização botânica das partes aéreas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., através da comparação entre dados da literatura e os observados nas plantas coletadas.

Características da espécie	Observação
Caule	
não alado	corresponde
cilindrico	corresponde
pêlos alvo-tomentosos	corresponde
Folhas	
sésseis ou curtíssimo pecioladas	corresponde
limbo linear a linear lanceolado	corresponde
pêlos alvo-tomentosos	corresponde
Capítulos	
dimensões de cerca de 1 mm de diâmetro	2,0 - 2,5 mm
reunidos em densos glomérulos paniculados	corresponde

TABELA 5 - (Cont.) Caracterização botânica das partes aéreas de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., através da comparação entre dados da literatura e os observados nas plantas coletadas.

Características da espécie	Observação
Brácteas	
amarelas, consistência escariosa, forma lanceolada e ápice agudo	corresponde
3 ou 4 séries, totalizando cerca de 9 brácteas	corresponde
Flores	
femininas: filiformes radiais entre 3 a 6	corresponde
hermafroditas: tubulosas centrais cerca de 3	corresponde em regra 1 a 2
Papus	
branco, unisseriado, com cerca de 4 mm de comprimento	corresponde
Aquênio	
escuro, glabro, obovóide	corresponde

3.1.1.2. Análise Cromatográfica

3.1.1.2.1. Cromatografia em Papel (CP)

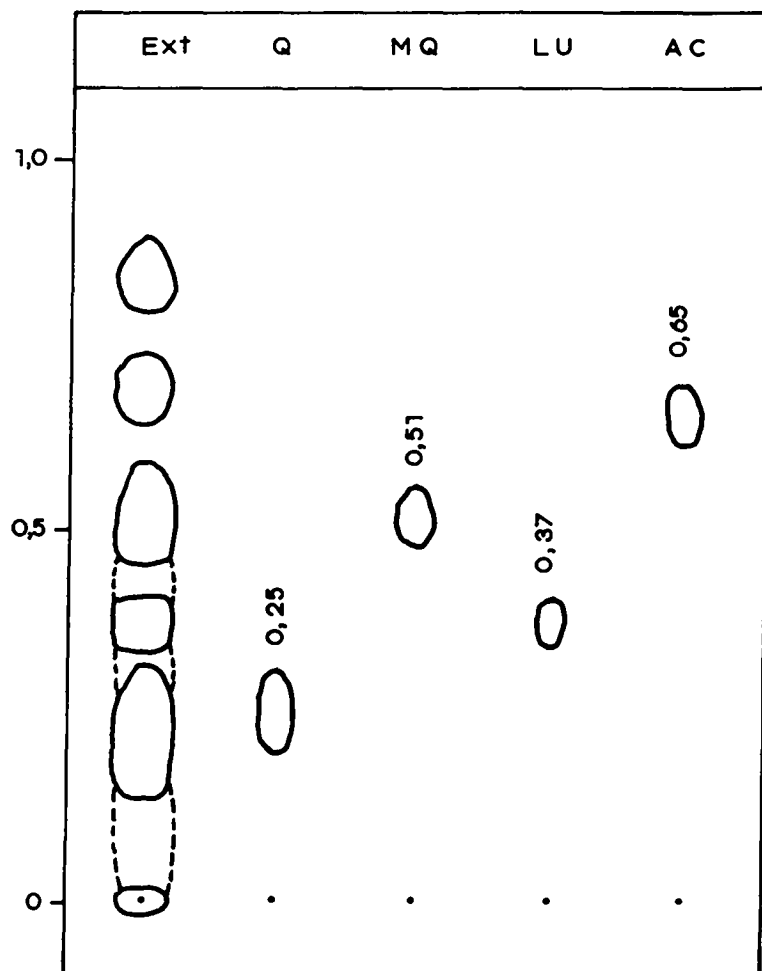


FIGURA 8 - Perfil cromatográfico do extrato (Ext.) obtido conforme descrito no item 2.2.1.2.1. e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40% (V/V).

3.1.1.2.2. Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

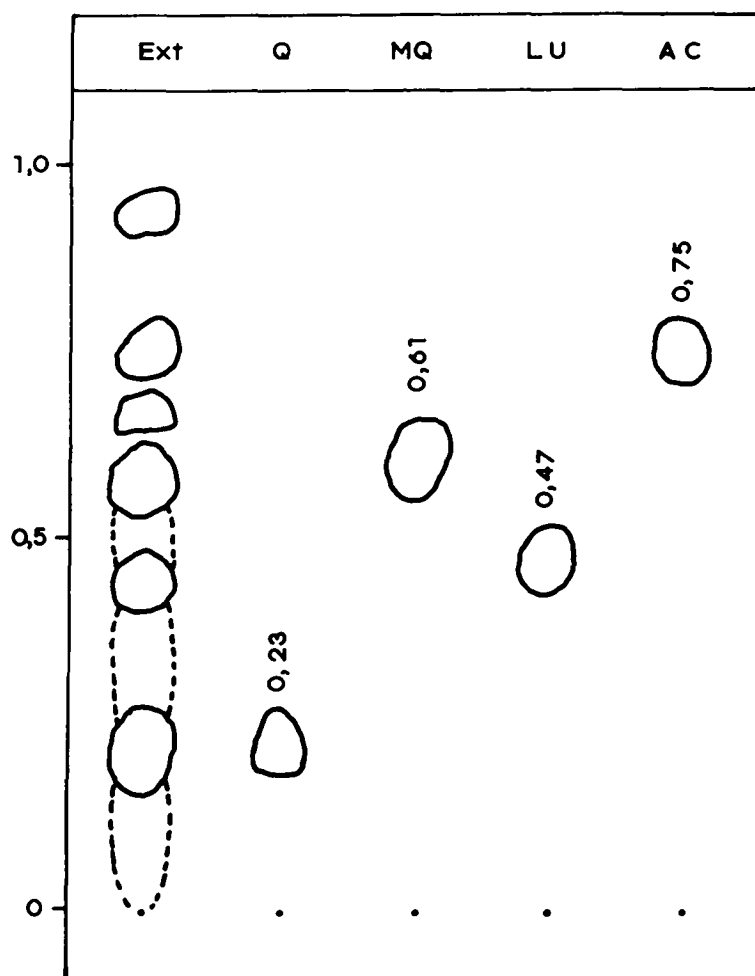


FIGURA 9 - Perfil cromatográfico do extrato (Ext.) obtido conforme descrito no item 2.2.1.2.1. e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: celulose. Eluente: clorofórmio: ácido acético glacial: água (50:45:5).

3.1.1.3. Determinação da Perda por Dessecação

TABELA 6 - Perda por dessecação da matéria-prima vegetal após 3 meses de armazenamento.

Amostra	n	Perda por Dessecação	
		(%; m/m)	CV (%)
Integra	4	12,64 ± 0,09	0,71
Moída	3	12,12 ± 0,07	0,58

3.1.1.4. Determinação do Teor de Extrativos

TABELA 7 - Teor de extrativos da matéria-prima vegetal moída após 3 meses de armazenamento (n = 3).

Amostra (g)	Resíduo-seco (g)	Teor de extrativos	
		(%; m/m)	CV (%)
1,0060	0,0265	13,22 ± 0,05	0,38

3.1.1.5. Determinação do Teor de Oleo Volátil

As flores integras de *Achyrocline satureioides*, após três meses de armazenamento, apresentaram 0,60 ml de óleo volátil em 100,0 g, resultando um teor de 0,68% (V/m) em relação à droga dessecada.

3.1.1.6. Determinação Quantitativa de Flavonóides Totais

TABELA 8 - Concentração de flavonóides totais na droga (0,630 - 0,800 mm) considerando a perda por dessecação (n = 3).

Droga (g)	Perda por dessecação (%; m/m)	Absorvância	Concentração de flavonóides totais (%; m/m) CV(%)
0,400	12,12	0,632	2,25 ± 0,04 1,86

3.1.2. CARACTERIZAÇÃO DO ETANOL COMERCIAL 96^oGL.Tabela 9 - Caracterização do etanol 96^oGL, submetido às determinações prescritas na Farmacopéia americana 21^a ed. (THE UNITED, 1985).

Determinação	Especificação	Resultado
Densidade	0,812 - 0,816 (15,56 ^o C)	0,8109 (20 ^o C)
Acidez	No máximo 0,90 ml de NaOH 0,02 N para neutralizar 50 ml de etanol	0,60 ml
Resíduo não volátil	No máximo 1,0 mg	0,930 mg
Substâncias insolúveis em água	A mistura permanece límpida durante 30 minutos quando resfriada a 10 ^o C	De acordo
Aldeídos e outras substâncias orgânicas estranhas	Permanência de cor rósea após desenvolvimento da reação	De acordo

3.1.3. CARACTERIZAÇÃO DAS MATERIAS-PRIMAS DAS BASES DE POMADAS

TABELA 10 - Caracterização das matérias-primas das bases de pomada submetidas às determinações farmacopéicas.

Determinação	Especificação	Resultado
Acido esteárico		
resíduo por ignição	no máximo 4 mg	2,6 mg
gordura neutra ou parafina	no máximo fraca opalescência	de acordo
índice de iodo	não mais que 4	2,28
Acido sórbico		
faixa de fusão	132°C - 135°C	132°C - 135°C
equivalente de neutralização	cada ml de NaOH 0,1 N equivale a 11,21 mg de C_6H_8O	para 0,0292 g foram consumidos 2,6ml de NaOH 0,1N resultando num equivalente de neutralização = 112,30
Alcool estearílico		
faixa de fusão	55°C - 60°C	56°C - 60°C
índice de acidez	não mais que 2	0,561
índice de iodo	não mais que 2	0,817
Lanolina sólida		
faixa de fusão	36°C - 42°C	37°C - 42°C
alcalinidade	não ocorre desenvolvimento de cor vermelha	de acordo

TABELA 10 - (Cont.) Caracterização das matérias-primas das bases de pomada submetidas às determinações farmacopéicas.

Determinação	Especificação	Resultado
acidez	no máximo 2ml de NaOH 0,1 N	1,1 ml de NaOH
índice de iodo	18 - 36	29
Monoestearato de glicerila		
faixa de fusão	no mínimo 55°C	entre 66°C - 68°C
índice de acidez	não mais que 6	1,78
índice de saponificação	155 - 165	163,11
Lauril sulfato de sódio		
reação B de identificação do sódio	precipitado cristalino	de acordo
reação A de identificação do sulfato	precipitado branco	de acordo
ensaios fundamentais	no máximo 8,0% de teor combinado de cloreto e sulfato sódio	cloreto de sódio 0,80% (m/m); sulfato de sódio 3,52% (m/m)
Polissorbato 80		
reação A de identificação	solução opalescente	de acordo
densidade	1,06-1,09 (25°C)	1,08
índice de saponificação	45 - 55	51
índice de acidez	máximo 2,2	0,2

TABELA 10 - (Cont.) Caracterização das matérias-primas das bases de pomada submetidas às determinações farmacopéicas.

Determinação	Especificação	Resultado
Propilenoglicol		
densidade	1,035-1,037 (25°C)	1,0356
acidez	no máximo 0,2 ml de NaOH 0,1 N	0,05 ml de NaOH 0,1 N
substâncias redutoras	cor amarela persistente	de acordo
Trietanolamina		
reação B de identificação	ponto de fusão dos cristais obtidos é cerca de 178°C	175°C - 184°C
densidade	1,120-1,128 (25°C)	1,1250
índice de refração	1,481-1,486 (25°C)	1,482
Vaselina líquida		
densidade	0,845-0,905 (25°C)	0,8510
viscosidade	no mínimo 38,1 cst (37,8°C)	42,48 cst
limite de compostos polinucleares	no máximo um terço da absorvância em 275 nm da solução padrão	275 nm padrão = 0,242 amostra = 0,060
Vaselina Sólida		
densidade	0,815-0,880 (60°C)	0,837
faixa de fusão	38°C - 60°C	40°C - 60°C
consistência	100-300 mm (25°C)	198 ± 0,5 mm (n = 6)

3.2. VALIDAÇÃO DO MÉTODO CP/UV

TABELA 11 - Influência do tempo de refluxo sobre a extração de quercetina no método CP/UV (255 nm; n = 4).

Tempo de refluxo (min)	Absorvância $\pm s$	CV(%)	Quercetina (mg/ml)
15	0,816 \pm 0,003	0,40	1,175
30	0,819 \pm 0,004	0,51	1,179
45	0,820 \pm 0,009	1,10	1,180
60	0,828 \pm 0,008	0,97	1,183

TABELA 12 - Absorvâncias do suporte cromatográfico (papel) empregado no método CP/UV (255 nm; n = 3).

Area (cm ²)	Peso(g)	Absorvância $\pm s$	CV (%)
16	0,1299	0,143 \pm 0,004	2,70
36	0,2923	0,321 \pm 0,039	1,21
64	0,5198	0,564 \pm 0,017	3,01
100	0,812	0,876 \pm 0,025	2,85

TABELA 13 - Absorvâncias das soluções padrão de quercetina e do suporte cromatográfico (papel), determinados respectivamente por UV e por CP/UV (255 nm; n = 3).

Concentração de quercetina (µg/ml)	UV	CP/UV	Papel (CP/UV)
	Abs ± s (CV%)	Abs ± s (CV%)	Abs ± s (CV%)
2	0,146 ± 0,0023 (1,58)	0,169 ± 0,0033 (1,95)	0,049 ± 0,0008 (1,67)
4	0,280 ± 0,0012 (0,44)	0,284 ± 0,0071 (2,50)	0,056 ± 0,0005 (0,84)
6	0,417 ± 0,0009 (0,23)	0,416 ± 0,0009 (0,23)	0,075 ± 0,0008 (1,09)
8	0,560 ± 0,0012 (0,22)	0,543 ± 0,0021 (0,39)	0,086 ± 0,001 (1,45)
10	0,696 ± 0,0022 (0,31)	0,699 ± 0,0035 (0,50)	0,132 ± 0,0002 (0,12)
12	0,824 ± 0,0005 (0,05)	0,816 ± 0,0033 (0,40)	0,140 ± 0,0005 (0,34)

TABELA 14 - Equação das curvas de absorção das soluções-padrão de quercetina descritas na tabela 13.

Curva	Equação	r	Tc(≤ 0,001)
UV	y=0,0091 + 0,0683.x	0,999	140,11
CP/UV	y=0,0271 + 0,0658.x	0,999	50,03
CP/UV-B	y=0,0069 + 0,0559.x	0,999	198,82

3.3. CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS INTERMEDIARIOS

3.3.1. EXTRATO HIDROALCOOLICO

Os resultados referem-se aos extratos parciais (Ep) das sete séries de dois macerados obtidos conforme descrito em 2.2.2.1.1. (p.55).

3.3.1.1. Análise Cromatográfica

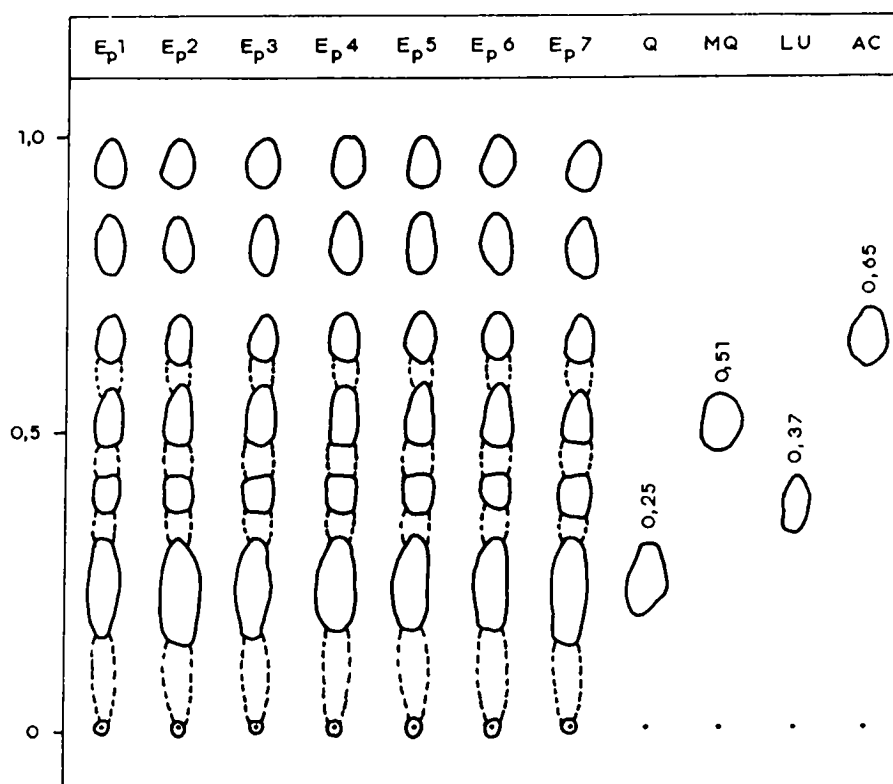


FIGURA 10 - Perfil cromatográfico dos extratos parciais Ep1, Ep2, Ep3, Ep4, Ep5, Ep6, Ep7 e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40% (V/V).

3.3.1.2. Determinação do pH e Densidade

TABELA 15 - Valores de pH e densidade dos extratos parciais (n = 3).

Extratos parciais	pH		Densidade	
	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%
Ep1	5,62 ± 0,102	1,81	0,864 ± 0,004	0,46
Ep2	5,61 ± 0,097	1,73	0,866 ± 0,003	0,35
Ep3	5,60 ± 0,002	0,03	0,864 ± 0,021	2,43
Ep4	5,61 ± 0,056	0,10	0,868 ± 0,031	3,57
Ep5	5,65 ± 0,002	0,03	0,866 ± 0,006	0,69
Ep6	5,67 ± 0,065	1,13	0,872 ± 0,003	0,34
Ep7	5,65 ± 0,006	0,11	0,854 ± 0,003	0,35
Média geral	5,63 ± 0,026	0,47	0,864 ± 0,005	0,64

3.3.1.3. Determinação Quantitativa de Quercetina

TABELA 16 - Concentração de quercetina nos extratos parciais (Ep) determinada pelo método CP/UV (n = 3).

Ep	Absorvância ± s	CV(%)	Quercetina (mg/ml)
Ep1	0,330 ± 0,003	0,92	0,47
Ep2	0,333 ± 0,004	1,25	0,47
Ep3	0,334 ± 0,004	1,20	0,47
Ep4	0,334 ± 0,005	1,58	0,47
Ep5	0,333 ± 0,004	1,25	0,47
Ep6	0,334 ± 0,004	1,21	0,47
Ep7	0,330 ± 0,007	2,01	0,46
Média geral	0,332 ± 0,002	0,55	0,47 ± 0,004

3.3.2. EXTRATO PARCIAL AMOSTRA (EpA)

Os resultados referem-se ao conjunto das aliquotas de 150 ml oriundas dos extratos hidroalcoólicos parciais (Ep) conforme descrito no item 2.2.2.2. (p.55).

3.3.2.1. Análise Cromatográfica

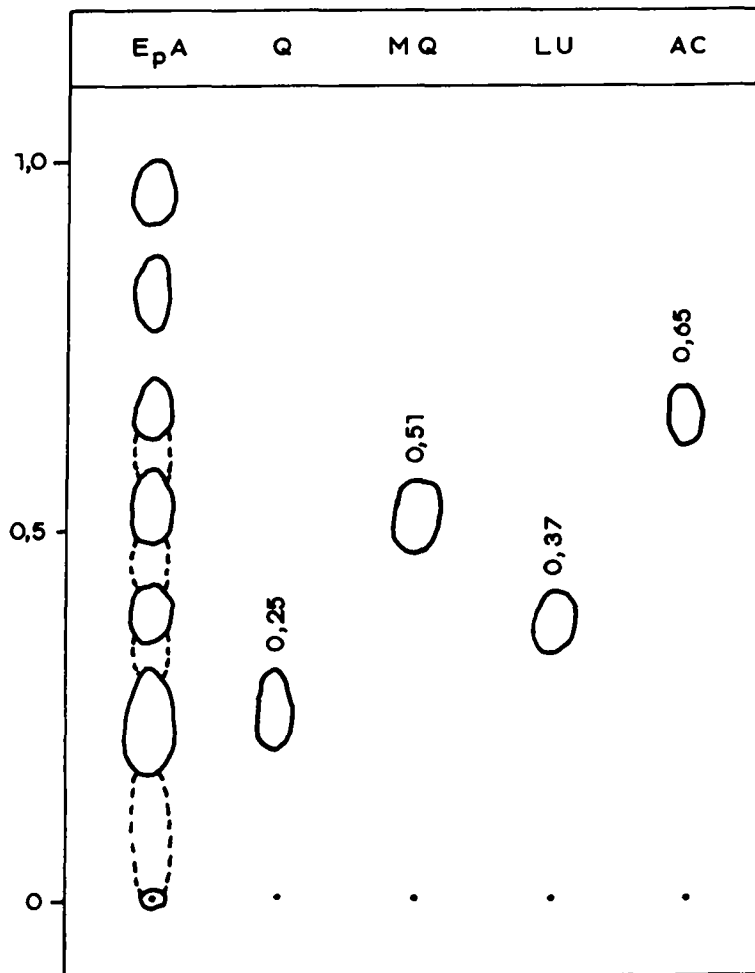


FIGURA 11 - Perfil cromatográfico do extrato parcial amostra (EpA) e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40% (V/V).

3.3.2.2. Determinações Organolépticas e Físico-químicas

Cor: castanho-esverdeado.

Odor: característico.

pH: $5,64 \pm 0,003$ (n = 3; CV% = 0,05).

Densidade: $0,862 \pm 0,002$ (n = 3; CV% = 0,23).

Teor alcoólico: 70% (V/V).

3.3.2.3. Determinação do Resíduo Seco

TABELA 17 - Resíduo seco determinado no extrato parcial amostra (EpA).

Amostra	n	(%; m/m)	Resíduo seco	CV(%)
EpA	3	$1,32 \pm 0,002$		0,15

3.3.2.4. Determinações Quantitativas

TABELA 18 - Concentrações de quercetina e de flavonóides totais no extrato parcial amostra (n = 3).

Substância(s)	Absorvância $\pm s$	CV (%)	Concentração
Quercetina	$0,334 \pm 0,010$	2,99	0,054 % (m/m)
Flavonóides totais	$0,505 \pm 0,003$	0,57	0,146 % (m/m)

* Corresponde a 0,47 mg/ml (Eq.3, p.53).

3.3.2.4.1. Avaliação da Influência do Tempo de Reação sobre os Valores de Absorção de Flavonóides Totais

TABELA 19 - Influência do tempo de reação sobre os valores de Absorção de Flavonóides Totais.

λ (nm)*	tempo (min)					
	30	45	60	75	90	105
25	0,505±0,003 (0,59)	0,550±0,003 (0,64)	0,578±0,003 (0,61)	0,609±0,004 (0,66)	0,633±0,004 (0,50)	0,657±0,005 (0,77)

*comprimento de onda

3.3.3. EXTRATO CONCENTRADO (EC)

Os resultados referem-se ao extrato concentrado obtido conforme descrito em 2.2.2.3. (p.58).

3.3.3.1. Determinações Organolépticas e Físico-químicas

Cor: castanho-escuro.

Odor: característico.

pH: solução a 10% (m/V) em água: $4,88 \pm 0,00$
(n = 3; CV% = 0,00).

solução a 10% (m/V) em etanol 80% (V/V):
 $5,48 \pm 0,005$ (n = 3; CV% = 0,09).

3.3.3.2. Análise Cromatográfica

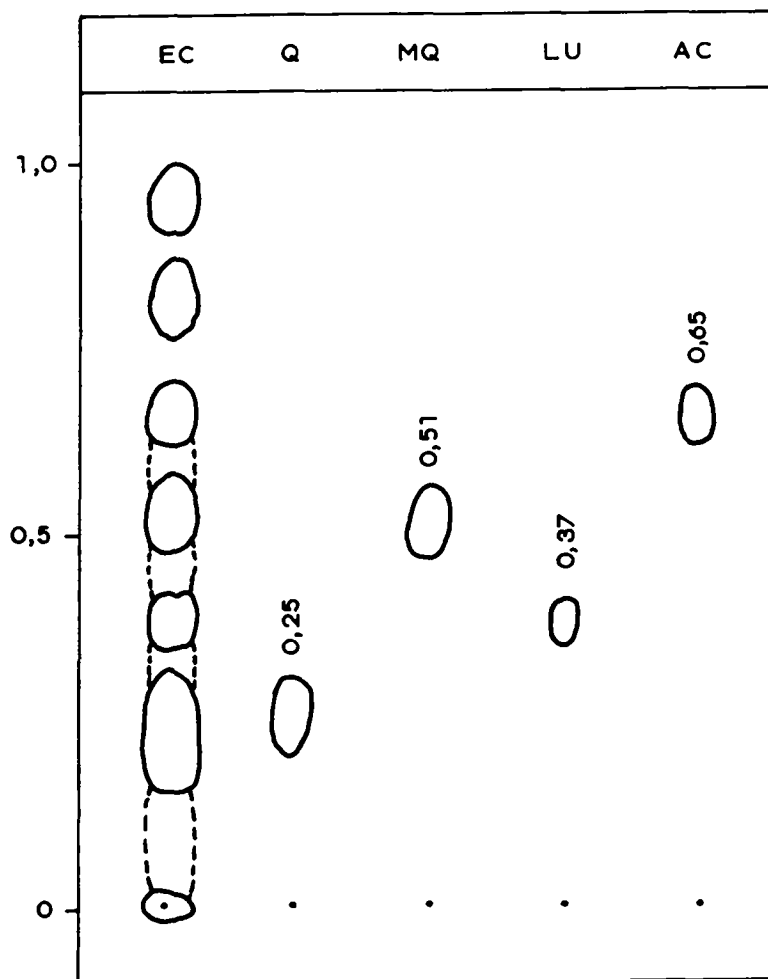


FIGURA 12 - Perfil cromatográfico do extrato concentrado (EC) e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metil-quercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40% (V/V).

3.3.3.3. Determinação da perda por dessecação

TABELA 20 - Perda por dessecação do extrato concentrado (EC).

Amostra	n	Perda por dessecação	
		(% ; m/m)	CV (%)
EC	3	35,49 ± 0,016	0,04

3.3.3.4. Determinações Quantitativas

TABELA 21 - Concentrações de quercetina e flavonóides totais no extrato concentrado (n = 3).

Substância (s)	Absorvância ± s	CV (%)	Concentração
Quercetina	0,327 ± 0,008	2,49	4,99 % (m/m)
Flavonóides totais	0,496 ± 0,004	0,71	13,33 % (m/m)

3.3.3.5. Avaliação Microbiológica

TABELA 22 - Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) no extrato concentrado (n = 4).

Item	Requisito	Resultado
m.v.t.		
bactérias	$\leq 10^2$ UFC/g *	<10 UFC/g *
fungos	ausente	ausente
leveduras	ausente	ausente
m.p.		
<i>Salmonella sp</i>	ausente	ausente
<i>Escherichia coli</i>	ausente	ausente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ausente	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	ausente	ausente

* Unidades formadoras de colônias

3.4. CARACTERIZAÇÃO DAS BASES DE POMADAS

3.4.1. DETERMINAÇÕES ORGANOLEPTICAS E FISICO-QUIMICAS

TABELA 23 - Características organolépticas e pH das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) (n = 3).

Base	Cor	Odor	pH \pm s	CV%
Hidrofílica	branca	característico	6,14 \pm 0,020	0,330
MEG	branca	característico	7,88 \pm 0,032	0,406

3.4.2. DETERMINAÇÃO DO INDICE DE OLEO

TABELA 24 - Índices de óleo das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) determinados a 30°C (n = 3).

Base	Índice de óleo (%; m/m)	
	$\bar{x} \pm s$	CV%
Hidrofílica	35,20 \pm 0,417	1,18
MEG	21,56 \pm 1,039	4,82

3.4.3. DETERMINAÇÃO DA CONSISTENCIA

TABELA 25 - Consistência das bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) determinada com penetrômetro a 25°C.

Base	n	Penetração (mm)	
		$\bar{x} \pm s$	CV%
Hidrofílica	6	30,64 \pm 0,784	2,55
MEG	8	32,84 \pm 0,776	2,36

3.4.4. DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE

TABELA 26 - Valores da espalhabilidade (Ei) da base hidrofílica em função do peso adicionado (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV %	Ei (mm ²)
47,58	27,53 \pm 1,36	4,96	594,95
95,54	33,35 \pm 0,91	2,76	873,09
142,48	37,00 \pm 0,70	1,91	1074,66
192,00	41,10 \pm 0,56	1,38	1326,02
238,79	44,53 \pm 1,44	3,24	1556,59
290,71	47,35 \pm 0,49	1,04	1759,99
339,24	48,60 \pm 0,14	0,29	1854,13
387,11	50,10 \pm 0,14	0,28	1970,35
441,21	51,25 \pm 0,35	0,69	2061,85
490,41	53,00 \pm 0,87	1,63	2205,06
561,43	53,66 \pm 1,15	2,15	2260,32
631,19	54,63 \pm 0,35	2,21	2342,78
700,97	54,75 \pm 0,35	0,64	2353,09
770,26	55,10 \pm 0,14	0,26	2383,27
837,31	55,60 \pm 0,20	0,36	2427,95
909,69	55,65 \pm 2,40	4,31	2432,32
981,18	55,80 \pm 1,85	3,31	2445,45
1051,49	55,80 \pm 1,90	3,40	2445,45
1122,52	55,82 \pm 2,30	4,12	2447,20

TABELA 27 - Valores da espalhabilidade (Ei) da base monoestearato de glicerila em função do peso adicionado (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV %	Ei (mm ²)
47,58	40,67 \pm 1,60	3,94	1298,42
95,54	51,00 \pm 0,43	0,84	2041,78
142,48	56,92 \pm 2,74	4,81	2543,31
192,00	61,67 \pm 2,36	3,83	2985,50
238,79	64,90 \pm 1,65	2,54	3306,43
290,71	66,90 \pm 1,65	2,47	3513,35
339,24	69,48 \pm 1,97	2,84	3789,56
387,11	70,90 \pm 1,65	2,33	3946,04
441,21	72,07 \pm 1,79	2,49	4077,36
490,41	72,57 \pm 1,52	2,10	4134,13
561,43	74,40 \pm 0,77	1,03	4345,26
631,19	74,66 \pm 0,90	1,21	4375,68
700,97	74,85 \pm 0,96	1,29	4397,98
770,26	74,95 \pm 0,97	1,30	4409,74
837,31	75,80 \pm 2,33	3,07	4512,61
909,69	76,50 \pm 1,63	2,13	4596,35
981,18	76,88 \pm 1,90	2,47	4642,12
1051,49	76,88 \pm 3,79	4,93	4642,12
1122,52	76,90 \pm 3,80	4,94	4644,54

3.4.5 - AVALIAÇÃO REOLOGICA

3.4.5.1. Determinação da Viscosidade

TABELA 28 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base hidrofílica (n = 8).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
162	6,42	13,0±0,35 (2,7)	14,0±0,53 (3,79)	289,9	312,2	4506,84	4853,52
81	12,84	12,0±0,42 (3,5)	14,5±0,62 (4,28)	267,6	323,3	2080,08	2513,43
54	19,26	10,0±0,51 (5,1)	12,5±0,73 (5,84)	223,0	278,7	1155,6	1444,50
27	38,52	15,0±0,78 (5,2)	14,0±0,54 (3,86)	334,5	312,2	866,7	808,92
18	57,78	27,5±0,69 (3,64)	17,5±0,98 (5,6)	613,2	390,2	1059,3	674,10
9	115,58	17,5±0,82 (4,7)	13,0±0,73 (6,62)	390,2	289,9	337,05	250,38
6	173,33	15,0±0,78 (5,2)	16,0±0,81 (5,06)	334,5	356,8	192,6	205,44
3	346,67	16,5±0,90 (5,45)	16,0±0,83 (5,19)	361,9	356,8	105,93	102,72
2	520,00	19,0±0,50 (2,63)	18,0±0,92 (5,11)	423,7	401,4	81,32	77,04
1	1040,00	19,5±1,20 (6,15)	-	434,8	-	41,73	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), † = valores da curva ascendente, ‡ = valores da curva descendente.

TABELA 29 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base monoestearato de glicerila (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
162	6,42	8,0±0,20 (2,5)	6,0±0,29 (4,80)	178,4	133,8	2773,44	2080,08
81	12,84	9,0±0,51 (5,6)	7,0±0,44 (6,28)	200,7	156,1	1560,06	1213,38
54	19,26	10,0±0,07 (0,7)	8,0±0,53 (6,62)	223,0	178,4	1155,60	924,48
27	38,52	11,0±0,40 (3,64)	8,5±0,56 (6,59)	245,3	189,5	635,58	491,13
18	57,78	12,0±0,40 (3,3)	9,0±0,52 (5,78)	267,6	200,7	462,24	346,68
9	115,58	14,5±0,40 (2,76)	11,0±0,50 (5,55)	323,3	245,3	279,27	211,86
6	173,33	15,5±0,63 (4,06)	13,0±0,65 (5,00)	345,6	289,9	199,02	166,92
3	346,67	19,0±0,63 (3,31)	17,0±0,40 (2,35)	423,7	379,1	121,98	109,14
2	520,00	23,0±0,87 (3,78)	21,0±0,63 (3,00)	512,9	468,3	98,44	89,88
1	1040,00	28,0±1,30 (4,64)	-	624,4	-	59,92	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

3.4.5.2. Determinação do Grau de Tixotropia

O grau de tixotropia para a base monoestearato de glicerila foi determinado através do cálculo da área entre as curvas do reograma (AEC) e pela relação da inclinação das retas. (a/b).

$$\text{AEC} = 38.795,12 \text{ Pa} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$a/b = 0,83$$

3.4.5.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico

A base monoestearato de glicerila apresentou ponto de fluidez teórico de 170,09 Pa.

3.4.6. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

TABELA 30 - Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) nas bases hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) (n = 4).

Item	Requisito	Base	
		Hidrofílica	MEG
m.v.t.			
bactérias	$\leq 10^2$ UFC/g*	<10 UFC/g*	<10 UFC/g*
fungos	ausente	ausente	ausente
leveduras	ausente	ausente	ausente
m.p.			
<i>Salmonella sp</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Escherichia coli</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	ausente	ausente	ausente

* Unidades formadoras de colônias

3.5. CARACTERIZAÇÃO DAS POMADAS

3.5.1. DETERMINAÇÃO DO pH

Pomada hidrofílica: $4,90 \pm 0,40$ (n = 3; CV% = 0,82).

Pomada monoestearato de glicerila: $6,60 \pm 0,010$

(n = 3; CV% = 0,15).

3.5.2. AVALIAÇÃO QUALITATIVA

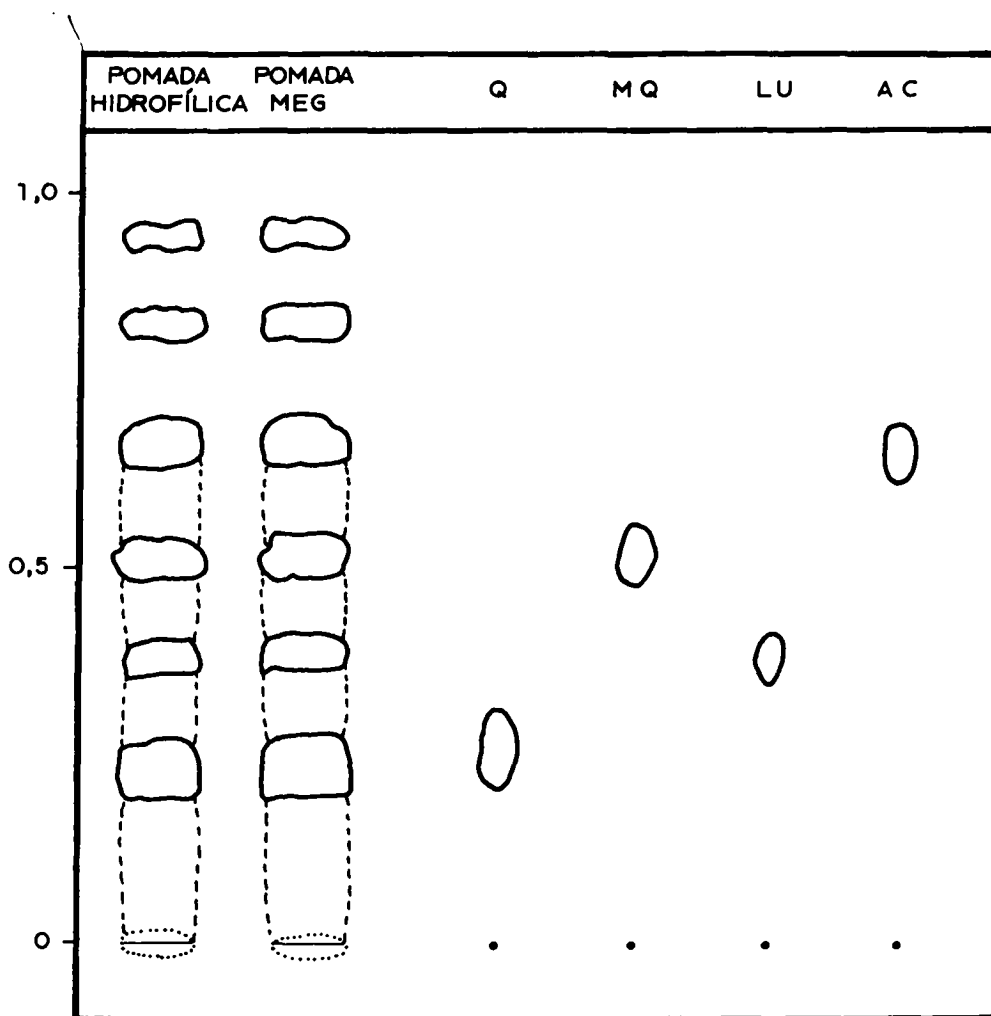


FIGURA 13 - Perfil cromatográfico das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metil-quercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte : papel de filtro. Eluente : ácido acético 40 % (V/V).

3.5.3. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA

TABELA 31 - Concentração de quercetina nas pomadas-referência
(n = 3).

Quercetina acrescentada (mg/g)	Quercetina detectada ($\bar{x} \pm s$)	CV(%)	Taxa de Recuperação (%)
3	2,90 \pm 0,075	2,58	96,67
6	5,84 \pm 0,088	1,52	97,33
9	8,75 \pm 0,297	3,40	97,22
12	11,53 \pm 0,288	2,50	96,08

TABELA 32 - Concentração de quercetina nas pomadas hidrofílica e
monoestearato de glicerila (MEG) (n = 3).

Pomada	Absorvância $\pm s$	CV %	Quercetina (mg/g)
Hidrofílica	0,454 \pm 0,018	3,96	7,890
MEG	0,448 \pm 0,009	2,20	7,990

3.5.4. DETERMINAÇÃO DO INDICE DE OLEO

TABELA 33 - Índices de óleo das pomadas hidrofílica e monoestera-
to de glicerila (MEG) determinadas a 30°C (n = 3).

Pomada	Índice de óleo	
	(% ; m/m)	CV%
Hidrofílica	27,23 \pm 1,01	3,72
MEG	18,44 \pm 0,80	4,39

3.5.5. DETERMINAÇÃO DA ESPALHABILIDADE

TABELA 34 - Valores da espalhabilidade (E_i) da pomada hidrofílica em função do peso adicionado ($n = 3$).

Peso(g)	diâmetro $\pm s$ (mm)	CV%	E_i (mm ²)
47,58	22,85 \pm 0,92	4,02	410,07
95,54	26,60 \pm 1,27	4,78	555,72
142,48	29,10 \pm 0,56	1,94	665,08
192,00	30,35 \pm 0,65	2,14	723,45
238,79	31,50 \pm 0,50	1,59	779,31
290,71	31,75 \pm 0,75	2,36	779,31
339,24	32,25 \pm 1,25	3,87	816,86
387,11	32,75 \pm 0,75	2,29	842,39
441,21	32,75 \pm 0,75	2,29	842,39
490,41	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
561,43	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
631,19	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
700,97	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
770,26	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
837,31	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
909,69	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
981,18	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
1051,49	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92
1122,52	34,00 \pm 0,00	0,00	907,92

TABELA 35 - Valores da espalhabilidade (Ei) da pomada monoestera-
to de glicerila em função do peso adicionado (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	26,95 \pm 0,35	1,31	570,44
95,54	30,85 \pm 0,92	2,98	747,48
142,48	32,35 \pm 0,21	0,65	821,94
192,00	36,00 \pm 0,00	0,00	1017,88
238,79	39,45 \pm 0,35	0,90	1222,32
290,71	40,45 \pm 0,35	0,87	1285,07
339,24	40,85 \pm 0,49	1,21	1310,61
387,11	41,60 \pm 0,60	1,44	1358,49
441,21	42,30 \pm 0,52	1,23	1405,30
490,41	43,70 \pm 0,60	1,37	1499,87
561,43	43,90 \pm 0,63	1,43	1513,63
631,19	45,42 \pm 0,97	2,14	1619,43
700,97	46,00 \pm 0,98	2,13	1661,06
770,26	46,80 \pm 0,69	1,47	1719,34
837,31	47,50 \pm 1,14	2,94	1771,16
909,69	48,80 \pm 1,27	2,60	1869,43
981,18	49,60 \pm 1,32	2,66	1931,22
1051,49	50,65 \pm 1,17	2,30	2013,86
1122,52	50,85 \pm 1,20	2,36	2029,79

3.5.6. AVALIAÇÃO REOLOGICA

3.5.6.1. Determinação da Viscosidade

TABELA 36 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada hidrofílica (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CVX)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
162	6,42	19,0±0,43 (2,26)	9,5±0,05 (0,53)	423,7	211,8	6586,92	3293,46
81	12,84	21,5±0,53 (2,46)	8,5±0,31 (3,65)	479,4	189,5	3726,81	1473,39
54	19,26	20,0±0,55 (2,75)	12,0±0,61 (5,08)	446,0	267,6	2311,20	1386,72
27	38,52	20,0±0,98 (4,90)	11,5±0,48 (4,18)	446,0	256,4	1155,60	664,47
18	57,78	19,5±0,12 (0,62)	13,0±0,70 (5,38)	434,8	289,9	751,14	500,76
9	115,58	20,0±0,41 (2,05)	16,0±0,61 (3,81)	446,0	356,8	385,20	308,16
6	173,33	19,0±0,03 (0,16)	14,0±0,52 (3,71)	423,7	312,2	243,96	179,76
3	346,67	11,0±0,48 (4,36)	18,0±0,78 (4,33)	245,3	401,4	70,62	115,56
2	520,00	15,0±0,77 (5,13)	18,0±0,58 (3,22)	334,5	401,4	64,20	77,04
1	1040,00	15,0±0,48 (3,20)	-	334,5	-	32,10	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 37 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da pomada monoestearato de glicerila (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
162	6,42	12,0±0,00 (0,00)	9,0±0,00 (0,00)	267,6	200,7	4160,16	3120,12
81	12,84	13,8±0,45 (3,24)	10,2±0,43 (4,22)	307,7	228,6	2392,09	1776,73
54	19,26	14,7±0,45 (3,04)	11,6±0,41 (3,57)	327,8	259,1	1698,73	1342,81
27	38,52	16,1±0,54 (3,40)	13,2±0,43 (3,26)	359,0	295,5	930,26	765,58
18	57,78	17,2±0,45 (2,60)	14,0±0,70 (5,05)	383,5	312,2	662,54	539,28
9	115,58	23,0±1,52 (6,57)	16,6±0,55 (3,30)	512,9	370,2	442,98	519,70
6	173,33	26,3±1,52 (5,80)	19,2±0,84 (4,36)	585,4	428,2	337,05	246,53
3	346,67	28,6±0,55 (1,91)	25,2±1,09 (4,34)	637,8	561,9	183,61	161,78
2	520,00	31,5±1,00 (3,17)	29,7±1,09 (3,66)	702,4	682,4	134,82	130,96
1	1040,00	44,3±2,86 (6,45)	-	988,5	-	94,87	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

3.5.6.2. Determinação do Grau de Tixotropia

O grau de tixotropia da pomada monoestearato de glicerila foi determinado através do cálculo da área entre as curvas do reograma (AEC) e pela relação de inclinação das retas (a/b).

$$\text{AEC} = 52.150,10 \text{ Pa} \cdot \text{s}^{-1}$$

$$a/b = 0,76$$

3.5.6.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico

O ponto de fluidez teórico da pomada monoestearato de glicerila foi de 253,45 Pa.

3.5.7. DETERMINAÇÃO DA LIODISPONIBILIDADE

3.5.7.1. Total de Quercetina Liberada

TABELA 38 - Total de quercetina liberada (μg) das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo ($n = 8$).

Tempo (horas)	Pomada Hidrofílica		Pomada MEG	
	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%
1	130,37 \pm 3,17	2,43	114,97 \pm 5,26	4,60
2	156,97 \pm 5,89	3,75	124,32 \pm 7,88	6,30
3	181,98 \pm 7,49	4,11	158,41 \pm 7,14	4,51
4	199,82 \pm 6,87	3,44	172,50 \pm 5,79	3,35
5	222,86 \pm 6,03	2,70	192,00 \pm 7,13	3,71
6	253,62 \pm 5,81	2,32	237,30 \pm 6,95	2,93
7	313,65 \pm 12,46	3,97	277,69 \pm 6,87	2,47
8	329,50 \pm 5,85	1,78	307,54 \pm 8,15	2,65
9	361,48 \pm 6,34	1,75	349,86 \pm 7,18	2,05
10	402,79 \pm 7,08	1,76	392,58 \pm 9,29	2,37

3.5.7.2. Area sob as Curvas de Liodisponibilidade

TABELA 39 - Areas sob as curvas de liodiponibilidade das pomadas hidrofilica e monoestearato de glicerila (MEG).

Amostra	Hidrofilica	Pomada	MEG
1	2313,26		2007,50
2	2224,20		2059,00
3	2269,76		2153,61
4	2229,89		2108,38
5	2297,90		2100,95
6	2296,63		2085,44
7	2251,97		2111,38
8	2417,74		2049,45
\bar{x}	2287,67		2084,46
$\pm s$	61,78		44,96
CV%	2,70		2,16

3.5.8. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

TABELA 40 - Microrganismos viáveis totais (m.v.t.) e patógenos (m.p.) nas pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila (MEG) (n = 4).

Item	Requisito	Pomada	
		Hidrofílica	MEG
m.v.t.			
bactérias	$\leq 10^2$ UFC/g *	<10 UFC/g *	<10 UFC/g *
fungos	ausente	ausente	ausente
leveduras	ausente	ausente	ausente
m.p.			
<i>Salmonella sp</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Escherichia coli</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ausente	ausente	ausente
<i>Staphylococcus aureus</i>	ausente	ausente	ausente

* Unidades Formadoras de Colônias

3.5.9. ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE

3.5.9.1. Determinação Quantitativa

TABELA 41 - Concentração de quercetina na pomada monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento (n = 3).

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Absorvância ± s	CV%	Quercetina (mg/g)
0	ambiente (20 ± 2°C)	0,450 ± 0,008	1,78	7,97
3	25	0,449 ± 0,010	2,23	7,96
	35	0,447 ± 0,016	3,58	7,98
	45	0,449 ± 0,002	0,44	7,97
6	25	0,447 ± 0,011	2,46	7,98
	35	0,448 ± 0,009	2,20	7,99
10	25	0,445 ± 0,014	3,15	7,94
	35	0,446 ± 0,012	2,69	7,96
14	25	0,449 ± 0,009	2,00	7,96
	35	0,448 ± 0,012	2,68	7,99

3.5.9.2. Determinação da Espalhabilidade

TABELA 42 - Valores de espalhabilidade (E_i) da base e da pomada monoesterato de glicerila (MEG) em função do peso adicionado, determinados no tempo zero ($n = 3$).

Peso (g)	Base MEG			Pomada MEG		
	diâmetro $\pm s$ (mm)	CV(%)	E_i (mm ²)	diâmetro $\pm s$ (mm)	CV(%)	E_i (mm ²)
47,58	42,75 \pm 2,33	5,44	1435,36	26,25 \pm 1,25	4,76	541,19
95,54	51,05 \pm 1,10	2,15	2046,83	30,62 \pm 1,30	4,24	736,38
142,48	56,55 \pm 2,14	3,78	2511,63	32,87 \pm 0,62	1,90	848,57
192,00	61,15 \pm 2,73	4,46	2936,86	35,75 \pm 1,25	3,50	1003,79
238,79	62,50 \pm 0,90	1,38	3338,76	39,37 \pm 1,90	4,83	1217,36
290,71	67,40 \pm 1,64	2,43	3567,87	39,97 \pm 1,72	4,30	1254,75
339,24	69,17 \pm 0,88	1,30	3649,86	40,87 \pm 1,37	3,36	1311,89
387,11	69,60 \pm 1,43	2,05	3804,56	41,75 \pm 1,75	4,19	1368,99
441,21	71,69 \pm 2,41	3,36	4036,52	42,20 \pm 1,50	3,55	1398,67
490,41	73,35 \pm 2,89	3,93	4225,62	42,85 \pm 1,15	2,68	1442,09
561,43	73,87 \pm 3,12	4,22	4285,74	45,00 \pm 0,50	1,11	1590,43
631,19	74,90 \pm 2,97	3,97	4406,09	45,45 \pm 0,75	1,65	1622,40
700,97	75,50 \pm 3,20	4,24	4476,96	46,20 \pm 1,50	3,25	1676,54
770,26	76,29 \pm 3,35	4,39	4571,15	46,75 \pm 1,75	3,74	1716,54
837,31	76,80 \pm 2,90	3,77	4632,47	47,75 \pm 1,75	3,66	1790,76
909,69	77,20 \pm 2,88	3,73	4680,85	49,10 \pm 1,40	2,85	1893,45
981,18	77,97 \pm 2,79	3,58	4774,69	49,85 \pm 1,65	3,30	1951,73
1051,49	77,97 \pm 2,79	3,58	4774,69	50,85 \pm 1,65	3,24	2030,82
1122,52	78,10 \pm 3,03	3,88	4790,62	51,10 \pm 1,30	2,54	2050,83

TABELA 43 - Valores de espalhabilidade (Ei) da base monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 45°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	41,37 \pm 1,59	3,84	1344,19
95,54	48,00 \pm 1,41	2,94	1809,56
142,48	52,37 \pm 1,59	3,04	2154,05
192,00	56,50 \pm 2,12	3,75	2507,19
238,79	59,00 \pm 2,83	4,80	2733,97
290,71	61,62 \pm 2,65	4,30	2982,18
339,24	63,00 \pm 2,12	3,37	3117,24
387,11	63,50 \pm 2,83	4,46	3166,92
441,21	64,25 \pm 1,77	2,75	3242,17
490,41	65,75 \pm 1,06	1,61	3395,32
561,43	66,25 \pm 1,77	2,67	3447,16
631,19	66,55 \pm 1,34	2,01	3478,45
700,97	69,00 \pm 0,71	1,02	3739,28
770,26	69,37 \pm 0,53	0,76	3779,49
837,31	70,12 \pm 0,38	0,54	3861,65
909,69	70,87 \pm 0,18	0,25	3944,71
981,18	70,87 \pm 0,25	0,35	3944,71
1051,49	71,13 \pm 0,80	1,12	3973,70
1122,52	71,13 \pm 0,53	0,74	3973,70

TABELA 44 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 3 dias de armazenamento a 25°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,50 \pm 0,70	2,89	471,43
95,54	28,30 \pm 0,50	1,75	629,02
142,48	31,80 \pm 0,20	0,67	794,23
192,00	33,30 \pm 0,50	1,49	870,92
238,79	35,10 \pm 0,57	1,61	967,62
290,71	36,20 \pm 0,35	0,98	1029,22
339,24	38,10 \pm 0,56	1,48	1140,09
387,11	39,60 \pm 0,56	1,43	1231,63
441,21	41,50 \pm 0,70	1,70	1352,65
490,41	43,00 \pm 0,00	0,00	1452,20
561,43	43,20 \pm 0,35	0,82	1465,74
631,19	44,50 \pm 0,00	0,00	1555,28
700,97	46,20 \pm 0,35	0,76	1676,38
770,26	46,80 \pm 0,21	0,45	1720,21
837,31	48,10 \pm 0,85	1,76	1817,10
909,69	48,90 \pm 0,35	0,72	1878,05
981,18	50,10 \pm 0,85	1,69	1971,35
1051,49	50,30 \pm 0,49	0,98	1987,13
1122,52	51,70 \pm 1,77	3,42	2099,28

TABELA 45 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 6 dias de armazenamento a 25°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,10 \pm 0,10	0,41	456,17
95,54	28,00 \pm 0,46	1,64	615,75
142,48	31,00 \pm 0,00	0,00	754,77
192,00	32,70 \pm 0,69	2,11	839,82
238,79	34,50 \pm 0,69	1,88	934,82
290,71	36,20 \pm 0,85	2,33	1046,35
339,24	39,00 \pm 0,49	1,26	1194,59
387,11	41,20 \pm 0,49	1,22	1269,23
441,21	41,30 \pm 0,00	0,00	1339,64
490,41	42,00 \pm 0,14	0,33	1385,44
561,43	42,50 \pm 0,21	0,49	1418,62
631,19	43,00 \pm 1,62	3,77	1452,20
700,97	44,00 \pm 1,21	2,75	1520,53
770,26	45,20 \pm 0,79	1,75	1604,60
837,31	47,40 \pm 0,76	1,60	1764,60
909,69	48,60 \pm 0,76	1,56	1855,08
981,18	49,98 \pm 0,64	1,28	1961,92
1051,49	50,03 \pm 0,75	1,50	1965,85
1122,52	50,07 \pm 0,93	1,86	1969,00

TABELA 46 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 10 dias de armazenamento a 25°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,75 \pm 0,35	1,41	480,86
95,54	29,00 \pm 0,53	1,83	660,18
142,48	34,00 \pm 0,35	1,03	907,46
192,00	36,75 \pm 0,71	1,93	1060,19
238,79	37,75 \pm 0,35	0,93	1118,67
290,71	39,00 \pm 0,53	1,36	1193,98
339,24	40,75 \pm 0,71	1,74	1303,54
387,11	41,00 \pm 0,71	1,73	1319,58
441,21	42,00 \pm 0,71	1,69	1384,74
490,41	43,00 \pm 0,41	3,80	1451,46
561,43	45,00 \pm 0,88	1,95	1589,62
631,19	46,00 \pm 1,41	3,06	1661,06
700,97	47,00 \pm 1,59	3,38	1734,06
770,26	47,50 \pm 1,24	2,61	1771,16
837,31	48,50 \pm 0,88	1,81	1846,52
909,69	49,50 \pm 0,88	1,78	1923,44
981,18	50,75 \pm 1,77	3,49	2021,82
1051,49	51,00 \pm 0,88	1,72	2041,78
1122,52	51,25 \pm 1,06	2,07	2061,85

TABELA 47 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 25°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,56 \pm 0,83	3,00	473,51
95,54	28,94 \pm 0,90	3,00	657,46
142,48	31,63 \pm 0,85	2,70	785,11
192,00	33,62 \pm 1,13	3,35	887,55
238,79	35,75 \pm 0,74	2,05	1003,28
290,71	37,25 \pm 0,84	2,26	1089,24
339,24	38,44 \pm 1,00	2,62	1159,94
387,11	39,87 \pm 1,16	2,92	1247,85
441,21	40,81 \pm 0,75	1,83	1307,38
490,41	41,50 \pm 1,08	2,60	1351,91
561,43	43,75 \pm 1,70	3,90	1502,54
631,19	45,25 \pm 1,55	3,42	1607,34
700,97	46,00 \pm 1,53	3,33	1661,06
770,26	46,94 \pm 2,14	4,63	1729,64
837,31	48,06 \pm 1,96	4,08	1813,16
909,69	48,44 \pm 2,13	4,39	1841,95
981,18	49,75 \pm 2,44	4,91	1942,92
1051,49	50,13 \pm 2,18	4,36	1972,32
1122,52	50,94 \pm 1,82	3,57	2036,98

TABELA 48 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoeste-
 tearato de glicerila em função do peso adicionado,
 após 3 dias de armazenamento a 35°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,50 \pm 0,68	2,71	471,43
95,54	28,90 \pm 0,38	1,32	655,97
142,48	30,02 \pm 1,40	4,64	716,31
192,00	33,70 \pm 0,68	2,02	891,97
238,79	35,10 \pm 0,60	1,72	967,62
290,71	37,10 \pm 1,30	3,50	1081,03
339,24	38,10 \pm 1,40	3,67	1140,10
387,11	38,70 \pm 1,20	3,10	1176,28
441,21	39,50 \pm 0,87	2,20	1225,42
490,41	41,30 \pm 1,70	4,12	1339,64
561,43	42,20 \pm 0,60	1,42	1398,67
631,19	43,90 \pm 1,80	4,10	1513,63
700,97	44,70 \pm 0,70	1,56	1569,30
770,26	45,00 \pm 0,76	1,69	1590,43
837,31	46,00 \pm 0,80	1,74	1661,90
909,69	47,10 \pm 0,40	0,85	1742,33
981,18	47,80 \pm 0,36	0,75	1794,51
1051,49	48,40 \pm 0,53	1,09	1839,84
1122,52	49,90 \pm 1,15	2,30	1955,65

TABELA 49 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoesteáreo de glicerila em função do peso adicionado, após 6 dias de armazenamento a 35°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	21,25 \pm 0,90	3,72	461,86
95,54	27,83 \pm 1,46	5,26	608,30
142,48	30,72 \pm 1,33	4,33	741,19
192,00	32,58 \pm 1,23	3,78	833,66
238,79	34,08 \pm 1,01	2,96	912,20
290,71	35,33 \pm 1,23	3,49	980,11
339,24	37,78 \pm 1,01	2,72	1085,11
387,11	38,17 \pm 1,42	3,72	1144,28
441,21	39,83 \pm 1,66	4,17	1245,97
490,41	40,75 \pm 0,90	2,21	1304,20
561,43	41,83 \pm 1,13	2,69	1374,25
631,19	42,66 \pm 0,58	1,35	1429,33
700,97	43,75 \pm 0,75	1,71	1503,30
770,26	45,08 \pm 0,38	0,85	1596,08
837,31	46,08 \pm 1,38	2,99	1667,69
909,69	46,92 \pm 1,70	3,63	1729,04
981,18	47,80 \pm 1,61	3,36	1794,51
1051,49	48,33 \pm 0,76	1,58	1834,52
1122,52	48,50 \pm 0,50	1,03	1847,45

TABELA 50 - Valores de espalhabilidade (Ei) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 10 dias de armazenamento a 35°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	Ei (mm ²)
47,58	24,23 \pm 0,25	1,04	461,10
95,54	28,40 \pm 0,17	0,61	633,47
142,48	30,92 \pm 0,38	1,23	750,88
192,00	33,07 \pm 0,12	0,35	858,93
238,79	34,17 \pm 0,29	0,85	917,02
290,71	35,63 \pm 0,60	1,69	997,06
339,24	37,13 \pm 0,98	2,64	1082,78
387,11	37,57 \pm 0,76	2,00	1108,59
441,21	39,17 \pm 1,04	2,66	1205,03
490,41	40,23 \pm 0,46	1,14	1271,13
561,43	40,73 \pm 0,25	0,62	1302,92
631,19	42,23 \pm 0,93	2,20	1400,66
700,97	43,00 \pm 0,50	1,16	1452,20
770,26	43,90 \pm 0,17	0,39	1513,63
837,31	44,57 \pm 0,11	0,26	1560,18
909,69	45,13 \pm 0,11	0,26	1599,63
981,18	45,90 \pm 0,69	1,51	1654,68
1051,49	46,63 \pm 1,36	2,93	1707,73
1122,52	46,90 \pm 1,39	2,93	1727,57

TABELA 51 - Valores de espalhabilidade (E_i) da pomada monoestearato de glicerila em função do peso adicionado, após 14 dias de armazenamento a 35°C (n = 3).

Peso (g)	diâmetro \pm s (mm)	CV%	E_i (mm ²)
47,58	25,41 \pm 0,14	0,57	506,85
95,54	29,58 \pm 0,38	1,29	686,86
142,48	32,38 \pm 0,20	0,62	823,04
192,00	34,25 \pm 1,09	3,18	920,85
238,79	35,50 \pm 1,00	2,81	989,30
290,71	35,87 \pm 1,05	2,91	1010,03
339,24	37,31 \pm 1,35	3,62	1092,75
387,11	39,00 \pm 1,41	3,62	1193,99
441,21	40,10 \pm 1,98	4,93	1262,29
490,41	41,87 \pm 1,23	2,95	1376,18
561,43	42,25 \pm 1,06	2,61	1401,27
631,19	42,35 \pm 1,20	2,83	1407,92
700,97	42,87 \pm 1,59	3,71	1442,70
770,26	43,00 \pm 0,70	1,63	1452,20
837,31	43,25 \pm 0,70	1,62	1469,14
909,69	43,58 \pm 2,00	4,60	1490,88
981,18	45,13 \pm 0,88	1,96	1598,82
1051,49	45,62 \pm 0,88	1,92	1633,73
1122,52	45,75 \pm 0,70	1,53	1643,05

3.5.9.3. Avaliação Reológica

3.5.9.3.1. Determinação da Viscosidade

TABELA 52 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidades da base monoestearato de glicerila determinados no tempo zero ($n = 6$).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	13,00±0,45 (3,46)	10,00±0,30 (3,0)	289,90	223,00	500,75	385,20
9	115,58	14,00±0,37 (2,64)	11,00±0,37 (3,36)	312,20	245,30	269,64	211,86
6	173,33	15,00±0,27 (1,80)	12,50±0,39 (3,12)	334,50	278,75	192,60	160,50
3	346,67	19,00±0,41 (2,16)	17,00±0,49 (2,90)	423,70	379,10	121,98	109,14
2	520,00	23,25±0,42 (1,81)	21,00±0,34 (1,70)	518,47	468,30	99,51	89,88
1	1040,00	29,56±0,49 (1,66)	-	659,19	-	63,26	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 53 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da base monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 45°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CVX)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	15,14±0,38 (2,50)	9,00±0,00 (0,00)	337,62	200,70	583,19	346,68
9	115,58	18,00±0,00 (0,00)	11,28±0,49 (4,32)	401,40	251,54	347,36	217,25
6	173,33	19,83±0,40 (2,01)	12,71±0,27 (2,10)	442,20	283,43	254,62	163,20
3	346,67	22,78±0,39 (1,71)	16,71±0,49 (2,92)	507,99	372,63	146,25	107,28
2	520,00	26,17±0,40 (1,52)	21,14±0,69 (3,26)	583,59	471,42	112,00	90,48
1	1040,00	33,10±0,89 (2,69)	-	738,13	-	70,83	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 54 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados no tempo zero ($n = 6$).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	16,36±0,19 (1,16)	10,96±0,98 (8,94)	364,83	243,96	630,19	422,18
9	115,58	18,84±0,27 (1,43)	13,82±0,70 (5,06)	420,13	308,18	362,86	266,17
6	173,33	21,67±0,51 (2,35)	17,92±0,73 (4,08)	483,24	399,61	278,24	230,09
3	346,67	26,28±0,70 (2,66)	23,50±0,44 (1,87)	586,15	524,05	168,71	150,87
2	520,00	30,00±0,95 (3,17)	28,25±0,52 (1,85)	669,00	629,97	128,49	121,15
1	1040,00	39,29±0,69 (1,76)	-	876,17	-	94,08	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 55 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 3 dias de armazenamento a 25°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,00±0,34 (2,00)	12,00±0,50 (4,17)	379,10	267,60	654,84	462,24
9	115,58	20,00±0,40 (2,00)	15,00±0,25 (1,17)	446,00	334,50	385,20	288,90
6	173,33	22,01±0,60 (2,72)	18,00±0,25 (1,39)	490,60	401,40	231,12	218,28
3	346,67	28,00±0,00 (0,00)	24,83±0,45 (1,81)	624,40	553,71	179,76	159,41
2	520,00	30,05±0,37 (1,09)	28,50±0,42 (1,47)	670,11	635,55	128,14	121,98
1	1040,00	43,65±0,40 (0,92)	-	973,44	-	93,41	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), † = valores da curva ascendente, ‡ = valores da curva descendente.

TABELA 56 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 6 dias de armazenamento a 25°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,31±0,25 (1,44)	11,00±0,00 (0,00)	386,12	245,30	666,78	423,72
9	115,58	19,88±0,19 (0,96)	14,25±0,40 (2,80)	443,32	317,77	382,89	274,45
6	173,33	21,26±0,38 (1,79)	18,39±0,81 (4,40)	474,10	410,19	272,98	236,12
3	346,67	29,65±1,49 (5,02)	26,23±0,53 (2,02)	661,95	585,00	190,35	168,39
2	520,00	30,04±0,83 (2,80)	28,43±0,68 (2,39)	670,00	634,00	128,57	121,68
1	1040,00	43,48±1,67 (3,84)	-	969,60	-	93,05	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 57 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 10 dias de armazenamento a 25°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,20±0,19 (1,10)	12,30±0,31 (2,52)	383,56	274,29	662,54	473,80
9	115,58	19,90±0,44 (2,20)	14,90±0,47 (3,15)	443,77	332,27	383,27	286,97
6	173,33	21,50±0,58 (2,70)	17,40±0,53 (3,05)	479,45	388,02	276,06	223,42
3	346,67	21,90±0,91 (3,26)	24,72±0,42 (4,70)	662,17	551,26	179,12	158,70
2	520,00	30,09±0,63 (2,09)	28,59±0,74 (2,59)	671,00	637,56	128,78	122,37
1	1040,00	42,90±0,79 (1,84)	-	956,67	-	91,81	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 58 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 25°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,27±0,37 (2,14)	12,37±0,58 (4,69)	385,12	275,85	665,24	476,60
9	115,58	20,10±0,31 (1,54)	15,10±0,62 (4,10)	448,23	336,73	387,20	290,92
6	173,33	21,46±0,50 (2,33)	17,36±0,73 (4,20)	478,56	387,13	275,54	222,90
3	346,67	28,10±0,55 (1,96)	24,92±0,38 (1,52)	626,63	555,72	180,44	160,02
2	520,00	30,60±0,69 (2,25)	29,10±0,37 (1,27)	682,38	648,93	130,97	124,56
1	1040,00	43,09±0,37 (0,86)	-	961,00	-	92,22	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 59 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 3 dias de armazenamento a 35°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	16,90±0,65 (3,84)	11,70±0,24 (2,05)	376,87	260,91	650,99	450,68
9	115,58	19,42±0,49 (2,52)	14,00±0,69 (4,92)	433,07	312,20	374,03	269,64
6	173,33	21,21±0,74 (3,49)	17,50±0,79 (4,51)	472,98	390,25	272,34	224,70
3	346,67	26,71±0,70 (2,62)	24,32±0,92 (3,78)	595,63	542,34	171,48	156,13
2	520,00	31,00±0,90 (2,90)	29,00±0,91 (3,14)	691,30	646,70	132,68	124,12
1	1040,00	40,36±1,02 (2,93)	-	900,02	-	86,37	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), † = valores da curva ascendente, ‡ = valores da curva descendente.

TABELA 60 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 6 dias de armazenamento a 35°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,76±0,60 (3,38)	13,00±0,49 (3,78)	396,01	289,90	684,05	500,76
9	115,58	20,00±0,74 (3,70)	16,00±0,45 (2,81)	446,00	356,80	385,20	308,16
6	173,33	23,00±0,69 (3,00)	19,00±0,177 (0,89)	512,90	423,70	295,32	243,96
3	346,67	29,00±0,37 (1,28)	26,00±0,81 (3,11)	646,70	579,80	186,18	166,92
2	520,00	33,00±1,09 (3,30)	31,00±0,56 (1,81)	735,90	691,30	141,24	132,68
1	1040,00	44,00±1,39 (3,16)	-	981,20	-	94,16	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 61 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 10 dias de armazenamento a 35°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	17,99±0,88 (4,90)	12,78±0,17 (1,33)	401,24	285,02	692,97	492,28
9	115,58	21,57±0,78 (3,62)	16,86±0,22 (1,30)	481,01	375,98	415,44	324,72
6	173,33	23,29±0,64 (2,75)	19,86±0,35 (1,76)	519,37	442,88	299,04	255,00
3	346,67	28,39±0,42 (1,48)	24,93±0,17 (0,68)	633,10	555,94	182,26	160,05
2	520,00	31,42±0,36 (1,14)	29,61±0,70 (2,36)	700,66	660,30	134,48	126,73
1	1040,00	43,09±0,52 (1,20)	-	961,00	-	92,21	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), ↑ = valores da curva ascendente, ↓ = valores da curva descendente.

TABELA 62 - Valores das tensões de cisalhamento e viscosidade da pomada monoestearato de glicerila determinados após 14 dias de armazenamento a 35°C (n = 6).

U	D(s ⁻¹)	S ± s (CV%)		τ (Pa)		η (m Pa . s)	
		↑	↓	↑	↓	↑	↓
18	57,78	18,11±0,31 (1,71)	14,75±0,43 (2,91)	403,85	328,92	697,60	568,17
9	115,58	21,25±0,83 (3,90)	17,88±0,33 (1,85)	473,87	398,72	409,28	344,37
6	173,33	22,50±0,50 (2,22)	20,50±0,66 (3,22)	501,75	457,15	288,90	263,22
3	346,67	28,00±0,87 (3,11)	25,63±0,96 (3,75)	624,40	571,55	179,76	164,54
2	520,00	31,81±0,61 (1,92)	29,50±0,95 (3,22)	709,36	657,85	136,15	126,25
1	1040,00	42,37±1,32 (3,12)	-	944,85	-	90,67	-

U = fator de velocidade, D = gradiente de cisalhamento (Eq.10; p.71), S = valor da escala do aparelho, τ = tensão de cisalhamento (Eq.9; p.71), η = viscosidade (Eq.8; p.71), † = valores da curva ascendente, ‡ = valores da curva descendente.

3.5.9.3.2. Determinação do Grau de Tixotropia

TABELA 63 - Valores do grau de tixotropia da base e pomada monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo e da temperatura de armazenamento.

	Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Grau de Tixotropia	
			AEC*	a/b**
Base MEG				
	0	ambiente (20 ± 2°C)	37075,984	0,88
	14	45	93308,768	0,55
Pomada MEG				
	0	ambiente (20 ± 2°C)	43918,892	0,84
	3	25	44206,358	0,85
		35	44589,212	0,83
	6	25	44669,164	0,85
		35	43282,563	0,83
	10	25	44394,425	0,85
		35	45629,408	0,83
	14	25	44051,225	0,85
		35	46730,855	0,83

* Area entre as curvas. ** Relação das inclinações das retas.
(Explicação vide item 2.2.3.4.5.).

3.5.9.3.3. Determinação do Ponto de Fluidez Teórico

TABELA 64 - Valores dos pontos de fluidez teórico da base e pomada monoestearato de glicerila (MEG) em função do tempo e da temperatura de armazenamento.

	Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Ponto de fluidez teórico (Pa)
Base MEG	0	ambiente (20 ± 2°C)	189,89
	14	45	259,21
Pomada MEG	0	ambiente (20 ± 2°C)	256,00
	3	25	256,00
		35	262,44
	6	25	256,00
		35	267,32
	10	25	256,00
		35	278,89
	14	25	259,00
		35	285,61

3.5.9.4. Determinação da Liodisponibilidade

3.5.9.4.1. Validação da Determinação Quantitativa de Flavonóides Totais

TABELA 65 - Relação entre diluições da solução-mãe (SM_1), obtida na quantificação de flavonóides totais do eluato da décima hora da liodisponibilidade da pomada MEG, e as respectivas absorvâncias (item 2.2.4.2.2.9., p.80) (n = 3).

Fator de diluição da SM_1	Absorvância $\pm s$	CV (%)
0,20	0,067 \pm 0,0012	1,79
0,40	0,138 \pm 0,0016	1,18
0,60	0,203 \pm 0,0016	0,80
0,80	0,256 \pm 0,0012	0,49
1,00	0,330 \pm 0,0030	0,99

3.5.9.4.2. Flavonóides Totais Liberados

TABELA 66 - Total de flavonóides liberados (μg) da pomada mono-estearato de glicerila em função do tempo.

Tempo (horas)	$\bar{x} \pm s$	CV(%)
1	286,00 \pm 27,03	9,45
2	291,50 \pm 51,62	17,71
3	443,72 \pm 60,48	13,63
4	491,18 \pm 27,93	5,68
5	525,58 \pm 20,80	3,96
6	599,28 \pm 22,51	3,76
7	691,68 \pm 18,19	2,63
8	777,14 \pm 21,31	2,74
9	914,78 \pm 23,74	4,21
10	1050,13 \pm 37,01	3,52

TABELA 67 - Total de flavonóides liberados (μg) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

Tempo (horas)	3 ^o Dia		6 ^o Dia		10 ^o Dia		14 ^o Dia	
	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%
1	278,00 \pm 25,00	9,00	280,00 \pm 27,50	9,82	278,00 \pm 28,89	10,39	282,00 \pm 41,08	14,57
2	334,75 \pm 24,58	7,34	336,25 \pm 54,69	16,27	328,75 \pm 9,36	2,85	333,25 \pm 8,98	2,69
3	427,50 \pm 58,58	13,70	426,37 \pm 59,00	13,84	423,84 \pm 37,59	8,87	422,15 \pm 11,35	2,69
4	470,78 \pm 28,51	6,05	473,87 \pm 74,30	15,88	485,91 \pm 11,55	2,38	458,87 \pm 47,86	10,43
5	526,16 \pm 33,86	6,43	515,37 \pm 27,56	5,34	536,85 \pm 25,55	4,76	528,54 \pm 27,84	5,27
6	604,92 \pm 20,27	3,37	599,29 \pm 48,08	8,01	607,73 \pm 12,18	2,00	584,45 \pm 58,24	9,96
7	687,17 \pm 22,89	3,30	682,19 \pm 45,37	6,65	694,17 \pm 9,37	13,49	665,51 \pm 38,80	5,53
8	811,06 \pm 30,40	3,75	791,46 \pm 67,52	8,53	786,47 \pm 9,12	1,16	764,70 \pm 32,34	4,22
9	930,44 \pm 13,86	1,50	902,39 \pm 45,02	4,99	918,77 \pm 25,47	2,78	900,28 \pm 49,80	5,53
10	1050,74 \pm 31,57	3,00	1039,18 \pm 86,96	8,37	1037,37 \pm 19,15	1,84	1031,57 \pm 25,83	2,50

TABELA 68 - Total de flavonóides liberados (μg) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C .

Tempo (horas)	3 ^o Dia		8 ^o Dia		10 ^o Dia		14 ^o Dia	
	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%	$\bar{x} \pm s$	CV%
1	280,00 \pm 12,69	4,53	272,50 \pm 32,52	11,93	257,50 \pm 11,59	4,50	274,50 \pm 15,26	5,58
2	349,00 \pm 19,31	5,53	335,06 \pm 45,57	13,60	335,18 \pm 15,50	4,62	360,81 \pm 53,43	14,80
3	420,62 \pm 18,67	4,44	399,44 \pm 49,98	12,51	409,09 \pm 34,60	8,46	423,41 \pm 37,45	8,84
4	463,20 \pm 39,40	8,50	442,87 \pm 12,00	2,70	465,72 \pm 29,48	6,33	492,34 \pm 31,37	6,37
5	497,10 \pm 40,02	8,05	523,23 \pm 33,64	6,43	532,43 \pm 39,46	7,41	506,38 \pm 32,36	6,39
6	583,24 \pm 56,10	9,62	565,63 \pm 36,52	6,46	575,99 \pm 22,42	3,89	598,17 \pm 38,18	6,38
7	664,14 \pm 28,40	4,28	658,84 \pm 19,41	2,95	702,22 \pm 32,23	4,59	690,94 \pm 24,61	3,56
8	767,16 \pm 90,78	11,83	740,19 \pm 25,98	3,51	755,86 \pm 21,47	2,84	770,80 \pm 34,16	4,43
9	-		880,71 \pm 33,19	3,77	880,84 \pm 39,57	4,49	897,65 \pm 22,21	2,47
10	-		1012,29 \pm 20,29	2,00	943,14 \pm 79,16	8,39	1035,86 \pm 24,88	2,40

(-) dado perdido

3.5.9.4.3. Areas sob as Curvas de Liodisponibilidade

TABELA 69 - Areas sob as curva (ASC) de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila no tempo zero do estudo preliminar da estabilidade.

Amostra				(ASC)
1	2	3	4	$\bar{x} \pm s$ (CV%)
5454,21	5689,28	5506,16	5357,04	5501,68 \pm 139,51 (2,54)

TABELA 70 - Areas sob as curvas de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

AMOSTRA	3ºDIA	6ºDIA	10ºDIA	14ºDIA
1	5627,88	6121,65	5662,525	5892,77
2	5315,04	5045,71	5436,60	5254,92
3	5667,25	5389,35	5506,60	5803,75
4	5568,23	5367,66	5505,29	5191,37
\bar{x}	5544,60	5481,09	5527,75	5535,70
$\pm s$	158,36	455,03	95,61	363,66
CV%	2,86	8,30	1,73	6,57

TABELA 71 - Areas sob as curvas de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

AMOSTRA	3ºDIA*	6ºDIA	10ºDIA	14ºDIA
1	3609,38	5144,47	5525,48	5523,96
2	3445,21	5244,22	5183,85	5793,21
3	3706,92	5623,99	5127,80	5167,04
4	3648,06	5083,49	5557,02	5452,44
\bar{x}	3602,39	5274,04	5348,54	5484,16
$\pm s$	112,20	242,52	224,07	257,34
CV%	3,11	4,60	4,19	4,69

* Valores obtidos após oito horas de ensaio.

3.5.9.4.4. Análise Cromatográfica dos Eluatos da Liodisponibilidade.

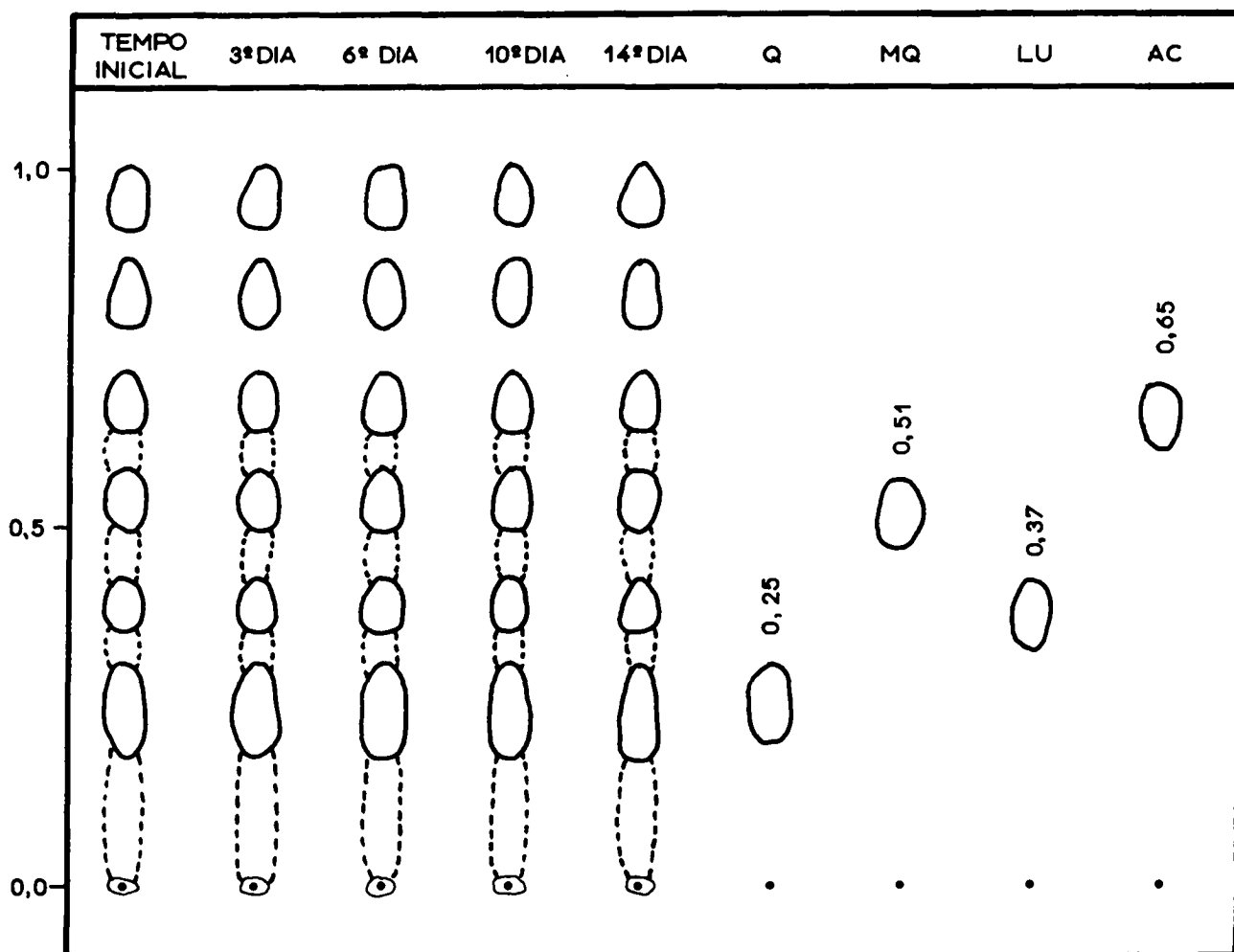


FIGURA 14 - Perfil cromatográfico dos eluatos da liodisponibilidade da pomada monoestearato de glicerila, em função do tempo de armazenamento a 25°C, e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40%(VV).

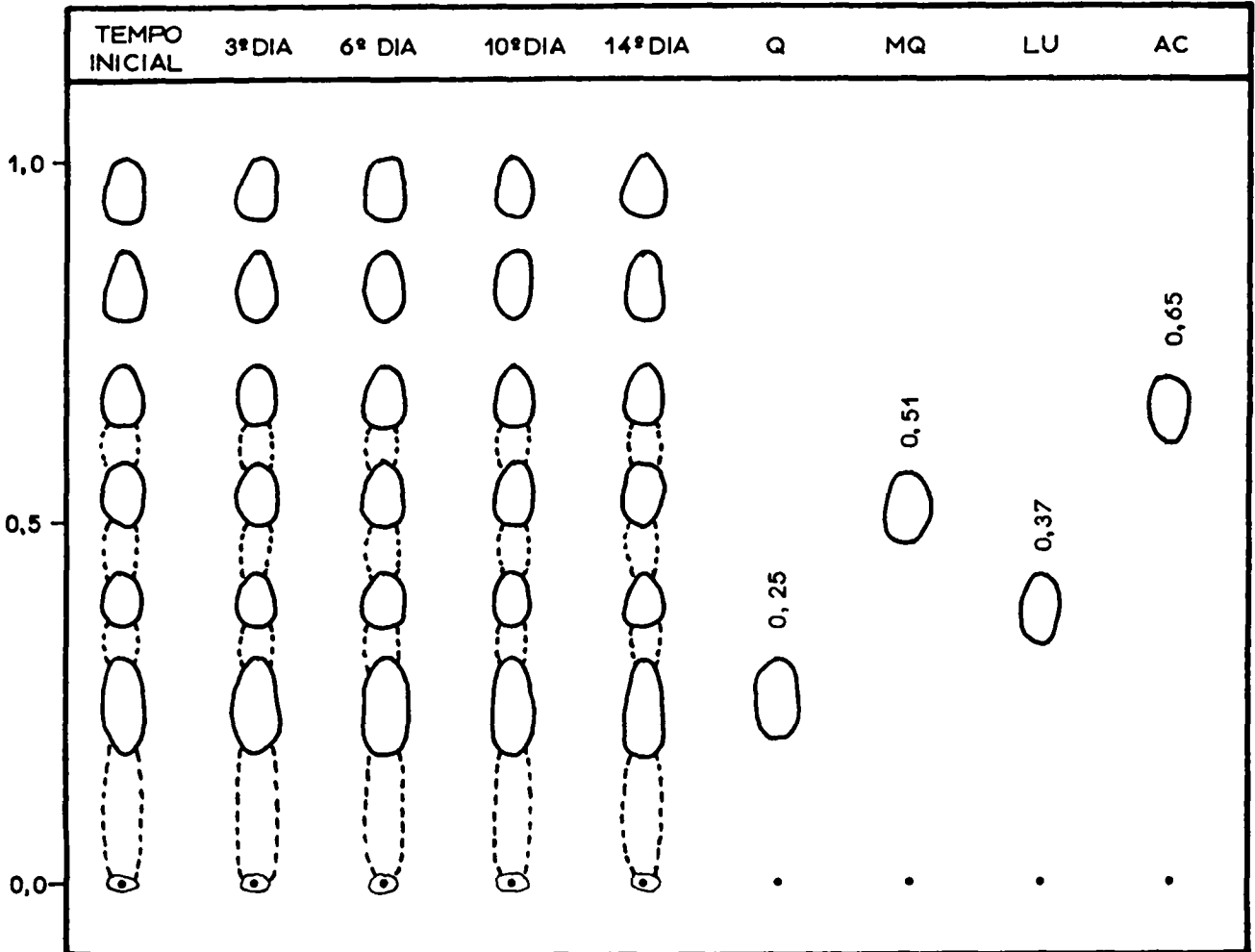


FIGURA 15 - Perfil cromatográfico dos eluatos da liodisponibilidade da pomada monoestearato de glicerila, em função do tempo de armazenamento a 35°C, e das substâncias-referência quercetina (Q), 3-O-metilquercetina (MQ), luteolina (LU) e ácido cafeico (AC). Suporte: papel de filtro. Eluente: ácido acético 40 %(VV).

4. DISCUSSÃO

A qualidade das formulações farmacêuticas está estreitamente relacionada com a qualidade das matérias-primas. Na produção de fitoterápicos estas podem ser tanto o vegetal inteiro ou partes do mesmo, quanto produtos oriundos de modificações da droga (droga moída ou extratos). Considerando o primeiro caso, a correta classificação botânica seguida da determinação das características físico-químicas, químicas e tecnológicas é condição primordial para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica.

Os critérios estabelecidos por SONAGLIO (1987) para a caracterização botânica da *Achyrocline satureioides* asseguram sua identidade e impedem confusão com outros vegetais assemelhados. É preciso salientar, no entanto, que a diferenciação da espécie *satureioides* das outras espécies do gênero *Achyrocline* deve ser feita, não somente pela caracterização das sumidades floridas, mas igualmente através da avaliação morfológica dos outros elementos do vegetal. Isto demonstra a necessidade da aquisição da planta inteira como matéria-prima. Em se tratando de uma droga sazonal cuja coleta é feita no período que corresponde a maturação das sumidades floridas, o qual coincide com a época da Páscoa, fez-se necessário seu armazenamento. Devido a baixa densidade bruta que este vegetal apresenta, o mesmo foi compacta-

do manualmente na ocasião de seu acondicionamento. Esta ação causou alteração nas especificações das dimensões dos capítulos (Tabela 5).

Partindo-se do pressuposto que as inflorescências geralmente possuem substâncias ativas mais termolábeis do que as outras partes do vegetal, estas requerem maiores cuidados com relação as condições de secagem. Por isso, as sumidades floridas de *A. satureioides* foram secas ao abrigo da luz solar direta, a temperatura ambiente ($30 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa do ar entre 65-72%.

As análises cromatográficas da matéria-prima vegetal foram feitas através de cromatografia em papel e cromatografia em camada delgada (Figuras 8 e 9, p.87 e 88), conforme metodologia proposta por SONAGLIO (1987). Como substâncias-referência foram utilizadas soluções metanólicas das agliconas flavonoídicas quercetina, 3-O-metilquercetina, luteolina e de ácido cafeico. Os perfis cromatográficos foram semelhantes aos obtidos anteriormente em outro trabalho (SONAGLIO, 1987).

O doseamento dos flavonóides totais foi utilizado na avaliação quantitativa das sumidades floridas do vegetal. A quantificação de uma classe de compostos é preconizada nos códigos oficiais e, embora não traduza a concentração real dos constituintes da classe, devido aos diferentes valores dos máximos de absorvância que estes componentes apresentam, pode ser utilizada como parâmetro de análise da qualidade e de verificação da manutenção da mesma. O procedimento adotado prevê a hidrólise dos glicosídeos com acetona/ácido clorídrico concentrado e a

extração das agliconas com acetato de etila. O acréscimo de cloreto de alumínio propicia a formação de quelato com os flavonóides, cuja intensidade é verificada pela absorvância a 425 nm. Para evitar a interferência de leucoantocianidinas, que poderiam estar presentes, é adicionada hexametilenotetramina. Esta substância forma um complexo com as leucoantocianidinas evitando que as mesmas se hidrolisem, resultando em antocianidinas as quais interferem na detecção fotocolorimétrica (HARTKE, MUTSCHLER, 1987). Confrontando o valor médio obtido de 2,25% (m/m) (Tabela 8, p. 90), com o valor de 1,96% (m/m) apresentado por SONAGLIO (1987) constata-se diferença de 14,79%.

O teor de óleo volátil presente na planta, após três meses de armazenamento, foi semelhante ao determinado por SONAGLIO (1987) e superior aos obtidos por BAUER et al. (1979). Esta divergência de valores no teor de óleos voláteis foi igualmente verificada por LAMATY et al. (1991). Estes pesquisadores comprovaram valores de 0,24 a 0,84% (V/m) nas amostras analisadas.

Estas diferenças quantitativas podem estar relacionadas a fatores tais como: período do ciclo vegetativo no qual foram coletadas as amostras, tipo de solo, condições climáticas e local de coleta.

A determinação do teor de extrativos é uma técnica auxiliar no controle de qualidade da matéria-prima, adquirindo importância na ausência de métodos químicos ou biológicos para avaliar os constituintes ativos. Para que esta determinação seja válida faz-se necessário a manutenção das condições do ensaio, pois fatores como granulometria da droga, temperatura de aqueci-

mento e, principalmente, escolha do líquido extrator podem ocasionar resultados diferentes (ZHI-CEN, 1980).

A inexistência de dados que estabeleçam os limites de aceitação desta matéria-prima vegetal limita a avaliação dos resultados e faz com que os mesmos sirvam apenas como subsídio para o estabelecimento destes critérios. Visto que a qualidade é a adequabilidade a um determinado emprego e que a mesma deve ser determinada e mantida durante todas as etapas do processamento (SCHNEIDERS, WOLFF, 1976), a ausência destas especificações pode colocar em risco a eficácia do fitoterápico produzido.

A escolha de técnicas preparatórias de transformação possui papel relevante nas ações de transformações do ciclo de processamento e são decisivas para obtenção dos resultados esperados. Desse modo, a elaboração de um extrato como forma farmacêutica ou como produto intermediário na obtenção de formas derivadas, deverá obedecer os critérios de qualidade pré-estabelecidos para os métodos e operações.

Na preparação do extrato primário de *A. saturoioides* foi empregada a metodologia proposta por SONAGLIO (1987), que consiste na maceração de 7,5% (m/V) de sumidades floridas, previamente reduzidas em moinho de martelos, em etanol 80% (V/V) durante período de 8 dias e com agitação ocasional.

Observando-se os resultados das determinações físico-químicas (pH e densidade; Tabela 15, p.97), constata-se a manutenção destas características entre as diversas extrações, as quais apresentam valores médios de 5,63 para o pH e de 0,864 para

a densidade. Comparando-se estes valores com os obtidos para o extrato parcial amostra (EpA) (item 3.3.2.2., p.99) verifica-se que não houve diferença significativa ($\alpha \leq 0,05$) entre os mesmos.

O critério de avaliação quantitativa dos extratos hidroalcoólicos das sumidades floridas de marcela, foi a determinação da concentração de quercetina através de cromatografia em papel associada à espectrofotometria no ultravioleta (CP/UV). Adicionalmente para o EpA foi procedida a determinação de flavonóides totais. Neste procedimento foi avaliada a influência do tempo de reação sobre o teor de flavonóides totais. A análise dos resultados demonstra aumento significativo nos valores de absorvância com o aumento do tempo de reação ($\alpha \leq 0,05$). Observa-se ainda que no intervalo de tempo analisado não houve tendência ao equilíbrio (Figura 16). Por outro lado, independentemente do tempo de reação, o método mostrou-se reprodutível (CV%) (Tabela 19, p.100). Para que os resultados tenham validade comparativa faz-se necessário a fixação das condições de reação. Face aos dados expostos, optou-se pela avaliação após 30 minutos de reação. A validade do método CP/UV foi verificada anteriormente por SONAGLIO (1987), a qual comparou os resultados deste método com os obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), demonstrando correlação linear altamente significativa entre os mesmos.

Com base nos dados da Tabela 16 (p.97), pode-se verificar que houve reprodutibilidade nos resultados de todos os extratos parciais e que estes valores não diferiram significativamente

($\alpha \leq 0,05$) do valor médio de 0,47 mg/ml determinado para o extrato parcial amostra.

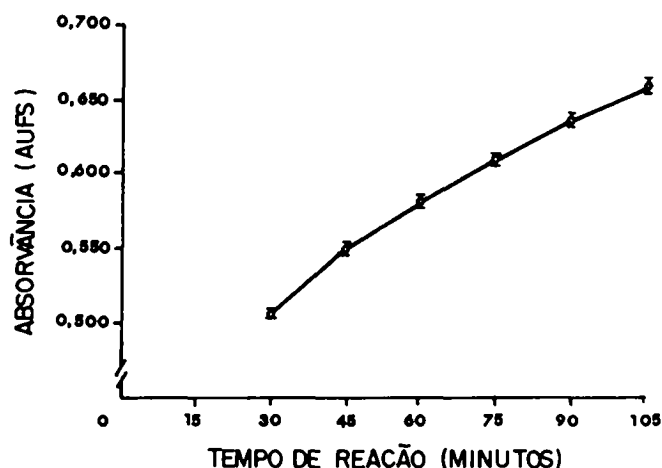


FIGURA 16 - Influência do tempo de reação sobre os valores de absorção de flavonóides totais.

Estes resultados mostraram-se discrepantes do teor de 0,128 mg/ml relatado por SONAGLIO (1987). Esta diferença de 267,18% pode ser decorrente de diversos fatores já referidos anteriormente e que influenciam na eficácia global da produção de extrativos vegetais, tais como: fatores taxonômicos, genéticos e edáficos, os quais se refletem na concentração da substância ativa na planta (MENSSEN 1979; BERNHARD, 1980; STELLMACH, 1980; BONATI, 1980; WICHTL, 1984; REPPLINGER, 1985), bem como da metodologia empregada na quantificação.

Com o propósito de descartar esta última possibilidade procedeu-se ao estudo da validação desta determinação quantitativa. Primeiramente verificou-se a influência do tempo de extração

sob refluxo. Os dados da Tabela 11 (p.94) e a figura 17 demonstram que não houve diferença significativa entre os valores das absorvâncias obtidas nos diferentes tempos de extração ($\alpha \leq 0,05$).

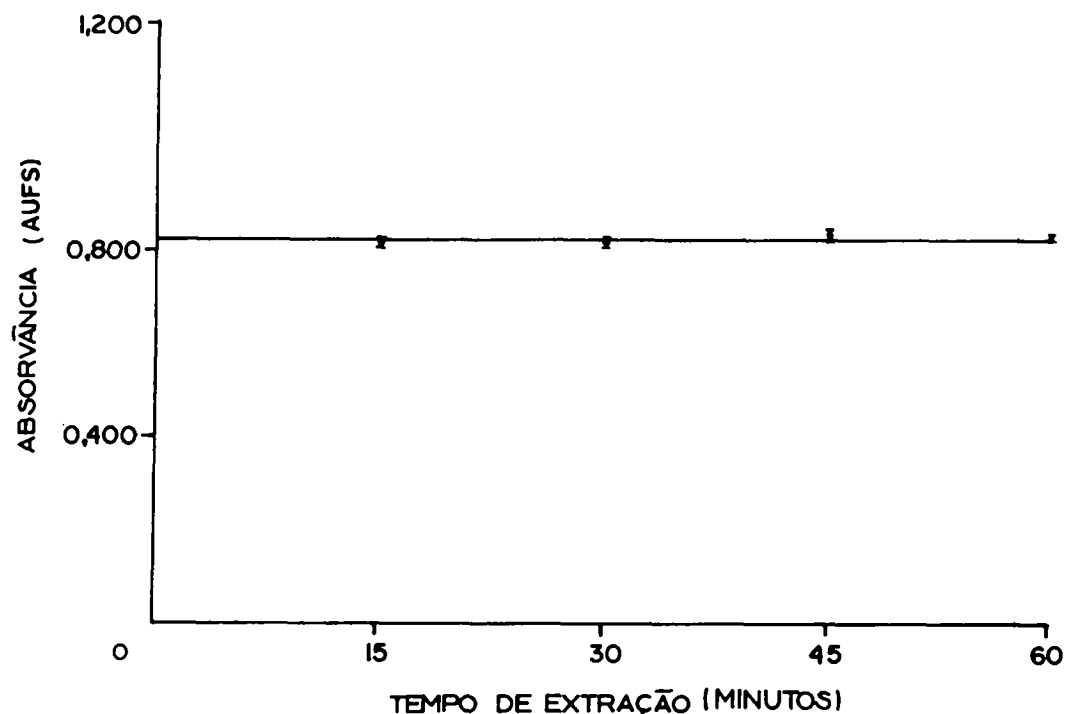


FIGURA 17 - Influência do tempo de extração nos valores de absorvância de quercetina a 255 nm.

A seguir procedeu-se a análise das curvas-padrão de quercetina determinadas diretamente por ultravioleta (UV direto) e por cromatografia em papel associada a espectrofotometria no ultravioleta (método CP/UV). Nestas curvas observa-se linearidade entre absorvância e concentração na faixa de 2,00 a 12,00 $\mu\text{g/ml}$. As retas obtidas apresentaram inclinações semelhantes, diferenciando-se quanto a seus pontos de intersecção com o eixo das absorvâncias (Tabelas 13 e 14, p.95 e Figura 18). O maior distanciamento da origem para a reta correspondente ao método CP/UV

poderia estar relacionado com a existência de algum fator de interferência.

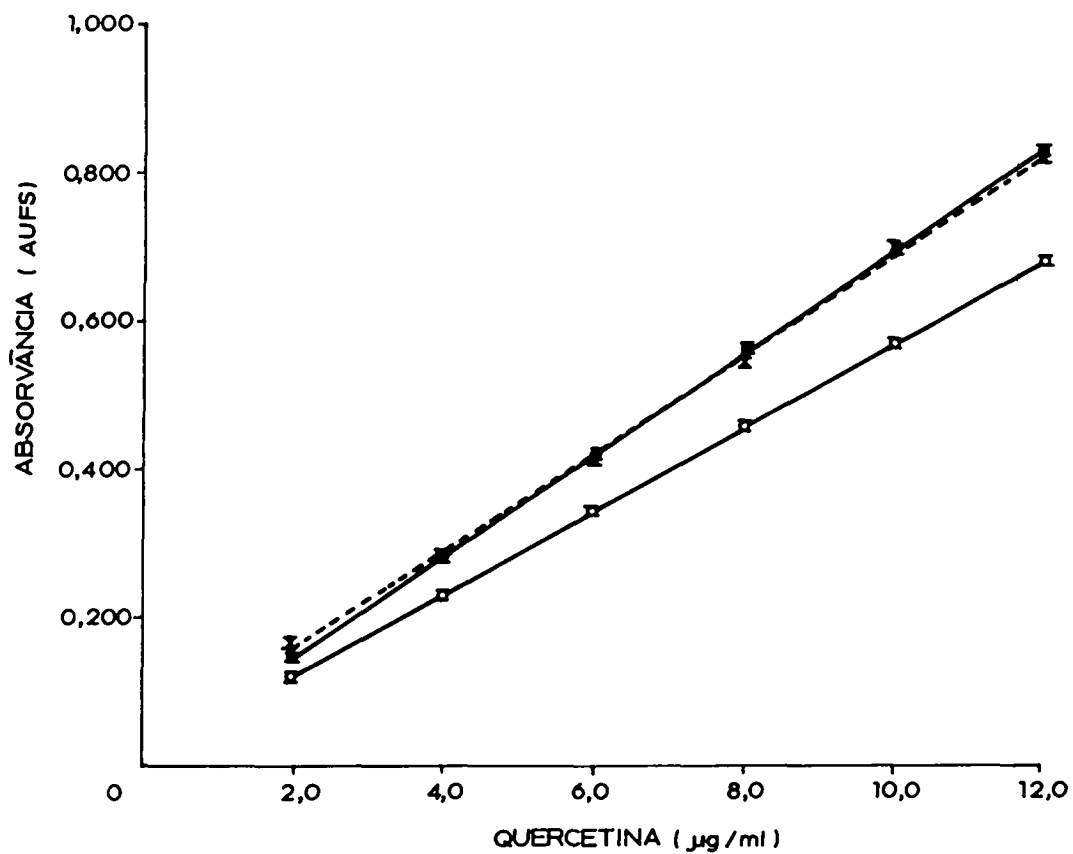


FIGURA 18 - Curvas-padrão de quercetina a 255 nm. UV direto (●—●), CP/UV (+----+), CP/UV-B (○—○).

Analisando-se os valores das absorvâncias obtidas através das duas técnicas de quantificação, observa-se correlação altamente significativa. O fator de relação de 1,022 (Figura 19), isto é, o quociente entre as absorvâncias obtidas nos dois métodos, para cada concentração utilizada, poderia ser interpretado, a primeira vista, como eficiência total no método indireto de quantificação. Uma avaliação mais criteriosa demonstrou, no entanto, que os valores obtidos no método CP/UV foram influenciados pela absorção dos componentes do papel de filtro no ultravioleta (Tabela 12, p.94 e Figura 20). A influência deste fator

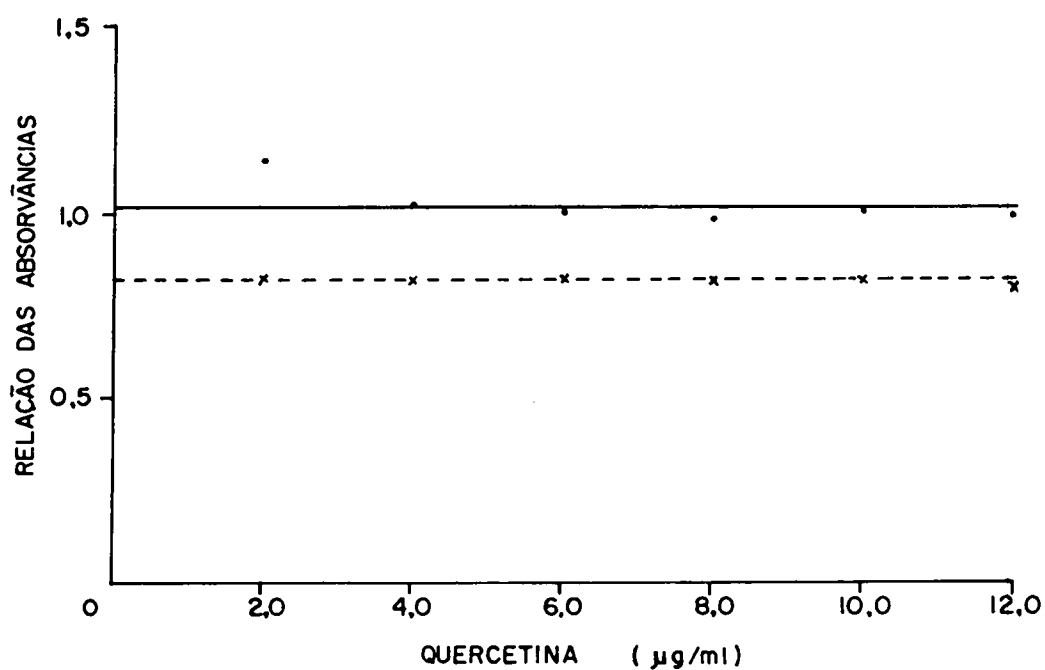


FIGURA 19 - Relação entre as absorvâncias do padrão de quercetina por UV direto e CP/UV (●—●) e por UV direto e CP/UV-B (x---x).

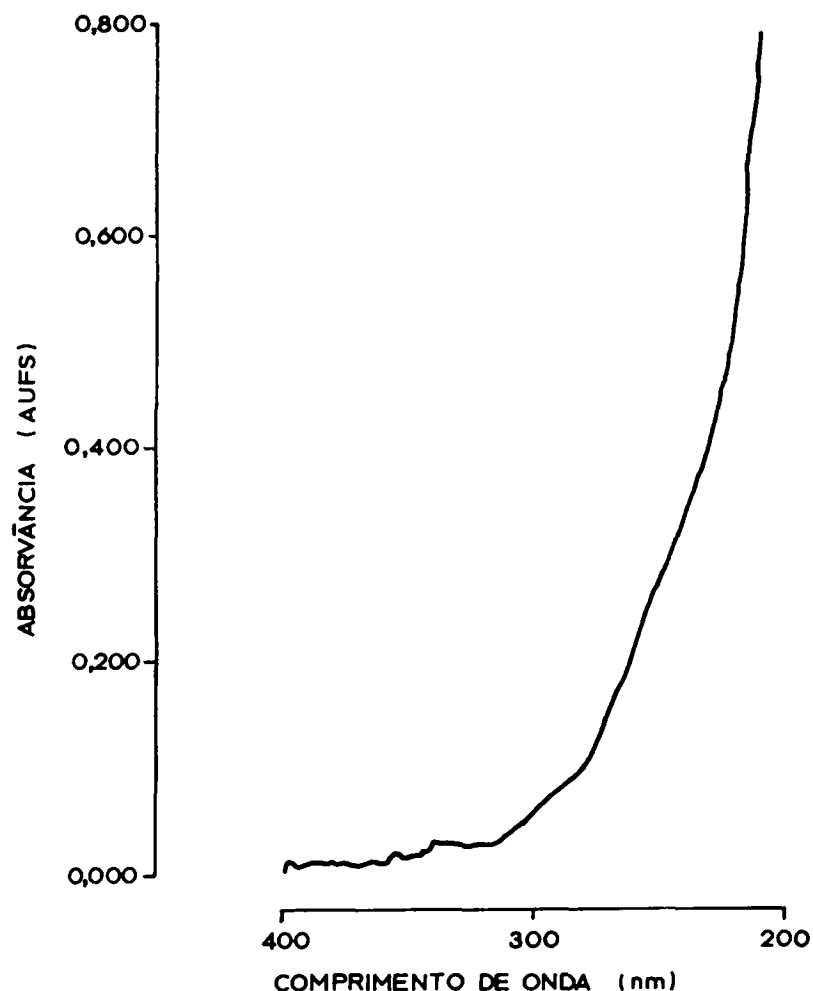


FIGURA 20 - Espectro de absorção de 36 cm² do papel de filtro.

já havia sido reportada por MABRY et al. (1970). A linearidade entre os valores de absorvância do papel e a sua área foi constatada pela correlação significativa a um nível de $\alpha \leq 0,05$ na faixa de 16 a 100 cm² (Figura 21).

Devido a esta interferência procedeu-se o cálculo do fator de correção. O mesmo foi baseado nos valores de absorção da curva padrão de quercetina por UV direto e na curva corrigida (CP/UV-B). (Tabelas 13 e 14, p.95). Esta última apresentou valores inferiores aos obtidos anteriormente pelo método CP/UV, man-

tendo porém, linearidade entre absorvância e concentração (Figura 18).

Comparando-se as retas obtidas por UV direto e CP/UV-B, observa-se uma diminuição média de 18,65% nos valores obtidos na curva padrão corrigida (Figura 19). Esta diferença foi indepen-

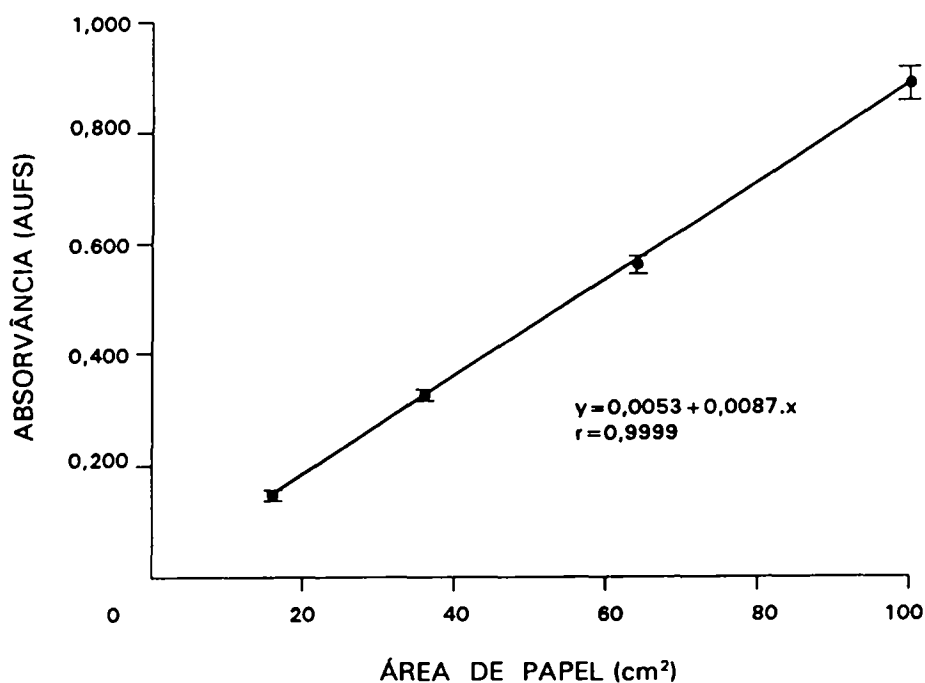


FIGURA 21 - Curva de absorção do papel de filtro a 255 nm.

dente da concentração de quercetina e pode ser atribuída principalmente, conforme demonstrado, à absorção do suporte cromatográfico, bem como a perdas e erros na aplicação, eluição e detecção inerentes ao método CP/UV (SRIVASTANA, KISHORE, 1985). A mesma foi incluída nas equações de cálculo do teor de quercetina sob a forma de fator de correção.

Para a escolha da concentração do extrato de *Achyrocline satureioides* na forma farmacêutica procurou-se, primeiramente, dados experimentais quanto a ação antiinflamatória tópica deste vegetal em seres humanos. No entanto, o único dado disponível na literatura, decorrente do trabalho de SIMOES (1988), demonstra esta atividade em animais. Neste trabalho, a substância referência empregada foi succinato ácido de hidrocortisona na dose de 5,0 mg/kg. No macerado etanólico a dose de 100 mg/kg foi a que propiciou maior atividade, embora a mesma correspondesse a 50% da apresentada pelo corticosteróide. Com base nestes dados, e na avaliação da concentração de produtos do mercado nacional que contém hidrocortisona (10 mg/g de pomada) (DEF, 1990) foi decidida a incorporação de 200 mg de extrato seco por grama de pomada. Isto representaria a incorporação de aproximadamente 15 ml do extrato hidroalcoólico por grama de pomada, o que seria tecnicamente inviável. Devido a isto objetivou-se um extrato seco a partir do macerado. No entanto, as técnicas de concentração utilizadas, evaporação a pressão reduzida e posterior secagem em estufa a vácuo, nas condições empregadas, não conduziram a sua obtenção. Um aumento da temperatura poderia levar ao produto desejado, por outro lado, poderia acarretar uma degradação dos componentes do extrato, conforme demonstrado por SONAGLIO (1987). BASSANI (1990) obteve extratos secos de *Achyrocline satureioides* por nebulização de uma solução com baixo teor alcoólico, entretanto, observou que a técnica empregada na desalcoolização (osmose inversa) causou perda importante dos compostos flavonoidicos. Tal fato impede seu

emprego para a finalidade desejada neste trabalho. Estas limitações técnicas conduziram a opção do uso de extrato concentrado, o qual viabilizou tecnicamente a forma farmacêutica. A concentração deste extrato foi feita sob pressão reduzida, utilizando-se temperatura máxima de 70°C. Nestas condições a redução de massa foi cerca de 90,74 vezes, resultando em aproximadamente 266 g de extrato concentrado. Visto que o mesmo apresentou 35,49% de perda por dessecação (Tabela 20, p.102) procedeu-se a incorporação de 270,98 mg de extrato concentrado por grama de pomada.

Observando-se o cromatograma deste extrato (Figura 12, p.101) constata-se que o mesmo apresenta todas as manchas correspondentes às substâncias marcadoras, as quais também foram determinadas no extrato primário.

A concentração de quercetina obtida por CP/UV (Tabela 21) foi de 4,99 % (m/m) de extrato concentrado. Considerando que o EpA apresentou 0,054 % (m/m) de quercetina, constata-se que 1 g de extrato corresponde a cerca de 90 g de extrato primário. Este resultado, confrontado com o relatado anteriormente para a redução de massa do extrato hidroalcoólico, indica que a técnica de concentração utilizada não alterou a quantidade total de quercetina presente no extrato.

Procedendo-se, do mesmo modo, a comparação entre o teor de flavonóides totais obtidos nestes extratos, observa-se a manutenção desta proporção. O teor de 3,33 % (m/m) (Tabela 21, p.102) de flavonóides totais no extrato concentrado correlacionado com o de quercetina, resulta numa relação de 2,7. Esta mesma

relação pode ser verificada no extrato parcial amostra (EpA) (Tabela 18, p.99). Estes dados demonstram que a operação de concentração do extrato hidroalcoólico também não ocasionou perdas na fração flavonoídica.

Visto que se objetivou a incorporação do extrato concentrado às bases de pomada foram utilizados como parâmetros de qualidade para a avaliação microbiológica, as exigências farmacopéicas para as formulações tópicas (classe microbiológica II). Os procedimentos indicados na Farmacopéia Brasileira 4^a ed. (FARMACOPEIA, 1988) para a preparação da amostra, mostraram-se inadequados para a obtenção de dispersão homogênea do extrato concentrado. Por isso, com base nos resultados de BONONI e NEGRETTI (1977) procedeu-se o tratamento do mesmo com igual quantidade de polissorbato 20. Os resultados da tabela 22 (p.103) indicam que o EC cumpre as exigências prescritas.

A seleção das bases de pomada para incorporação do EC levou em consideração critérios tais como: compatibilidade e universalidade de uso.

Dentre as bases comumente utilizadas, a pomada hidrofílica preconizada na Farmacopéia Americana 21^a ed. (THE UNITED, 1985) é compatível com grande número de substâncias ativas. A eficácia terapêutica, advinda de formulações nas quais foi utilizada como base, foi demonstrada experimentalmente "in vitro" e "in vivo" (BILLUPS, PATEL, 1979; TAKAMURA et al., 1984; ZOFF, BLAUG, 1990). Do mesmo modo, pomadas contendo monoestearato de glicerila são largamente utilizadas em produtos dermatológicos.

De acordo com FIERO e DUTCHER*, entre 45 diferentes ésteres de álcoois polihidroxilados, o monoestearato de glicerila é um dos que originam as melhores bases de pomada.

A pomada hidrofílica USP (THE UNITED, 1985) caracteriza-se por sua acentuada consistência, possuindo como vantagem a possibilidade de ser diluída com água. Este procedimento favorece a absorção do líquido seroso em distúrbios dermatológicos (THE UNITED, 1985). De acordo com estes dados, e devido a dificuldade encontrada na incorporação do extrato concentrado à base em sua fórmula original, procedeu-se aumento de 1,57 vezes na quantidade de água da formulação.

A conservação de pomadas é imprescindível para garantir e manter sua qualidade microbiológica. Os ésteres do ácido p-hidroxibenzóico (parabenos), muitas vezes preconizados como conservantes de pomadas, podem provocar eczemas de contato e reações sensibilizantes (SAMPAIO et al., 1982). Por outro lado, podem ter sua ação preservante diminuída por agentes tensioativos não iônicos como, por exemplo, os polissorbatos (VOIGT, BORNSCHEIN, 1982).

Devido a estes efeitos negativos, o metil e o propilhidroxibenzoato de sódio foram substituídos pelo ácido sórbico, que é amplamente utilizado em formulações tópicas por apresentar efeitos fungistáticos e bacteriostáticos e destacar-se por sua tolerância fisiológica (BALSAM et al., 1974; VOIGT, BORNSCHEIN, 1982; THE UNITED, 1985).

* Apud ZOPF, BLAUE (1990), op. cit. p.140.

A caracterização física e química das matérias-primas utilizadas na obtenção das bases de pomada foi efetuada de acordo com testes e ensaios descritos em códigos oficiais. O critério de escolha da metodologia baseou-se na disponibilidade de reagentes e equipamentos, bem como na adequabilidade técnica. Os resultados descritos na tabela 10 (p. 91) demonstram que todas as matérias-primas empregadas cumpriram as especificações preconizadas.

Após a preparação das bases de pomada foi procedida a avaliação de suas características. Além das determinações organolépticas e físico-químicas que podem auxiliar na avaliação da estabilidade (GRIMM, SCHEPKY, 1980), foi verificado o índice de óleo, também denominado índice de sangria, que constitui indicativo quanto a capacidade de retenção da parte líquida pela fase estruturada sólida e que está relacionado com a viscosidade da fase líquida e com a estabilidade da estrutura tridimensional da fase sólida (PHILLIPS, 1963). Através da análise dos dados da tabela 24 (p.104) observa-se diferença significativa ($\alpha \leq 0,05$) entre os índices de óleo das bases, sugerindo uma estrutura mais estável para a base MEG.

A consistência de formas farmacêuticas semi-sólidas pode ser determinada através de penetrômetro de cone, dando indicativo quanto a ductilidade do produto. Os resultados da tabela 25 (p.104) demonstram diferença significativa ($\alpha \leq 0,05$) entre os valores das consistências das bases empregadas sendo que, a base MEG apresentou maior valor de penetração e consequen-

temente, menor consistência em relação à base hidrofílica.

Uma das características essenciais destas formas farmacêuticas é a espalhabilidade, pois está intimamente relacionada com sua aplicação no local de absorção ou ação. Nas tabelas 26 e 27 (p.105 e 106) estão representados os valores da espalhabilidade em função do peso adicionado. A representação gráfica da espalhabilidade em função da massa aplicada (Figura 22) revela comportamentos paralelos, embora a base MEG apresente valores superiores aos observados para a base hidrofílica. Os incrementos percentuais de área para a base MEG e base hidrofílica são seme-

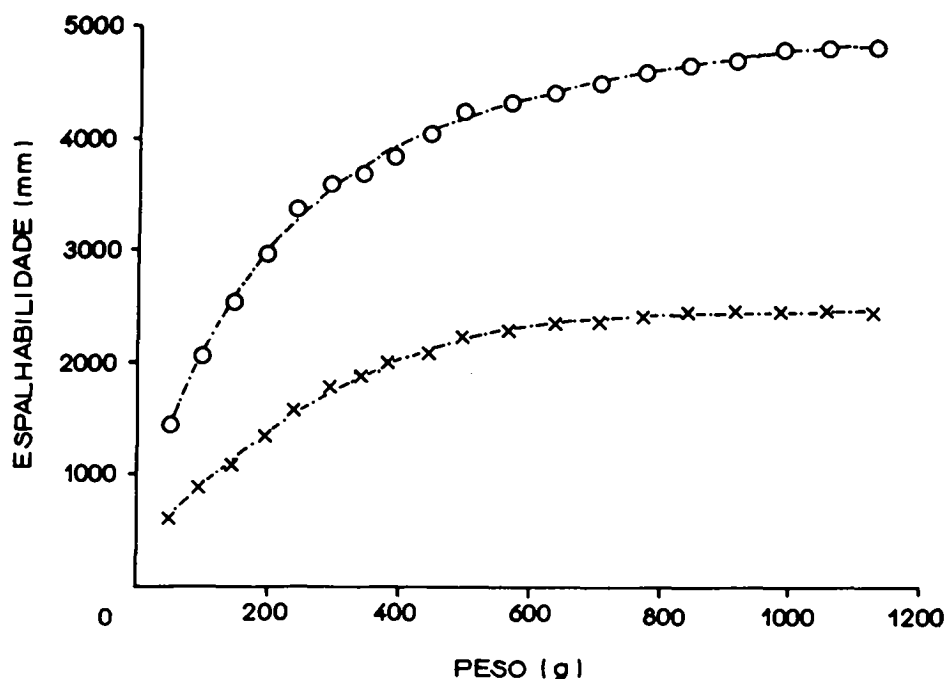


FIGURA 22 - Espalhabilidade das bases monoestearato de glicerila (o---o) e hidrofílica (x---x) em função do peso adicionado.

lhantes até o esforço de 238,79 g. A partir desta massa, a base MEG apresenta menor velocidade de espalhabilidade, encontrando seu valor limite a 837,31 g. Para a base hidrofílica, o limite foi de 631,19 g. Estes dados indicam que para alcançar a espalhabilidade máxima a base hidrofílica necessita de menor esforço, mas em contrapartida, a base MEG abrange maior área, o que pode ser expresso pela relação entre a área e o esforço limite. Para a base MEG foi de $5,39 \text{ mm}^2/\text{g}$ e para a base hidrofílica de $3,71 \text{ mm}^2/\text{g}$. Estes dados confirmam a melhor espalhabilidade da base MEG, o que se traduz por uma maior distribuição da base por área de aplicação para igual quantidade de amostra. Assim, a base MEG atingiu $41138,53 \text{ mm}^2/\text{g}$ e a base hidrofílica $37970,52 \text{ mm}^2/\text{g}$.

Tanto o teste da penetrabilidade, como o da espalhabilidade baseiam-se na resistência ao movimento forçado. A correlação entre os mesmos, para as duas bases em estudo, faz pressupor que as forças que regem estes ensaios possuem a mesma origem.

As viscosidades aparentes das bases MEG e hidrofílica foram avaliadas com auxílio de viscosímetro rotativo do tipo cone-placa. A análise dos dados das tabelas 28 e 29 (p.107 e 108) demonstra que não existe relação linear entre os valores das tensões de cisalhamento e dos gradientes de cisalhamento. Plotando-se os valores de $D=f(\tau)$ observa-se que para a base MEG (Figura 23) em gradientes crescentes de cisalhamento, seguidos de decrescentes, o reograma apresenta um ciclo ou curva de histerese, no qual o braço descendente foi deslocado de forma

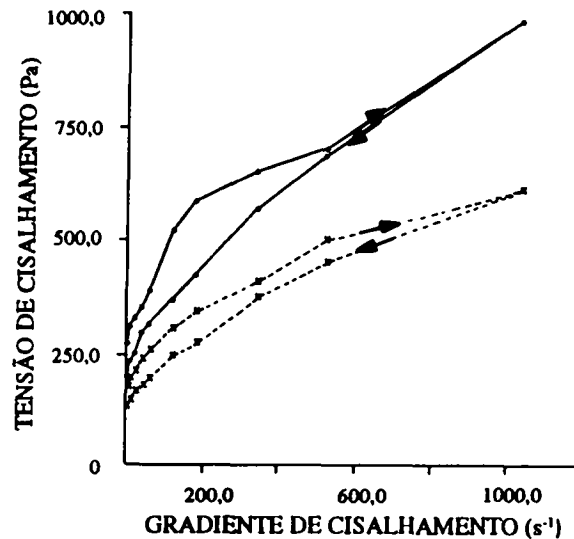


FIGURA 23 - Reograma da base (x---x) e da pomada (●—●) monoestearato de glicerila (MEG).

acentuada para posição inferior, revelando o caráter tixotrópico desta formulação. Este fenômeno indica o desmonte da estrutura tridimensional do sistema e tem especial interesse na tecnologia de pomadas, pois produtos tixotrópicos tornam-se mais fluidos quando submetidos a uma pressão externa e conseqüentemente, espalham-se mais facilmente na região onde são aplicados. Esta constatação confirma os resultados obtidos no teste de espalhabilidade.

O reograma da base MEG permite verificar ainda o comportamento plástico desta formulação, visto que, para ocorrer o escoamento é necessário a aplicação de uma determinada tensão mínima. Este valor não é tecnicamente alcançável através dos viscosímetros rotacionais (VOIGT, BORNSCHEIN, 1982), por isso foi determinado teoricamente através da representação gráfica da raiz

quadrada do gradiente de cisalhamento em função da raiz quadrada da tensão de cisalhamento (Figura 24). A extrapolação da reta obtida sobre o eixo das abcissas forneceu o valor teórico do ponto de fluidez.

A base hidrofílica quando submetida à avaliação da viscosidade em viscosímetro rotativo apresentou efeito Weissenberg, sendo gradativamente ejetada do instrumento de medição. Este comportamento é característico de substâncias viscoelásticas que apresentam elasticidade acentuada. Neste caso, para a avaliação das qualidades reológicas é preconizado a utilização de medidas dinâmicas (KULICHE, 1986). O reograma correspondente, obtido pelo emprego de viscosímetro tipo cone-placa, está representado na Figura 25. É possível visualizar que o limite de fluidez não parte do ponto de origem, demonstrando comportamento plástico. No entanto, a imprecisão dos dados devido a limitação do equipamento de medição, impossibilitou a sua interpretação e, conseqüentemente, a caracterização das propriedades reológicas desta formulação.

A incorporação a quente de extratos vegetais a bases de pomada deve considerar a instabilidade térmica de seus componentes (ROBERT, 1983). Com o intuito de evitar possíveis degradações, foi procedida a incorporação a frio.

A adição da quantidade pré-estabelecida de extrato concentrado às bases de pomada não propiciou incorporação adequada, resultando numa falta de homogeneidade de distribuição do extrato, visível pela formação de grumos e zonas de coloração dife-

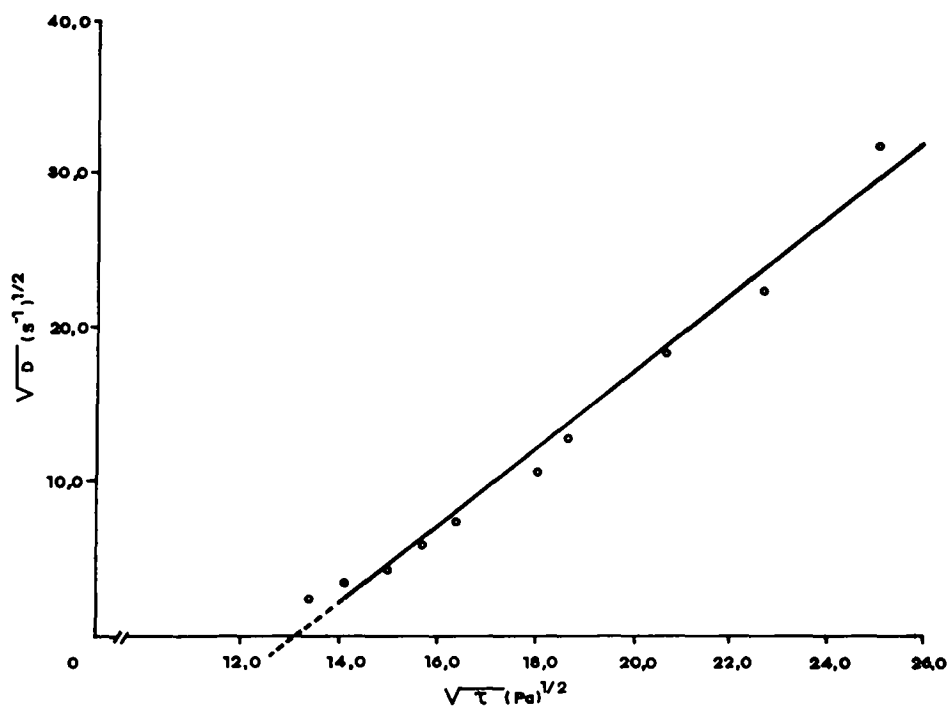


FIGURA 24 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da base monoestearato de glicerila. τ = tensão de cisalhamento, D = gradiente de cisalhamento.

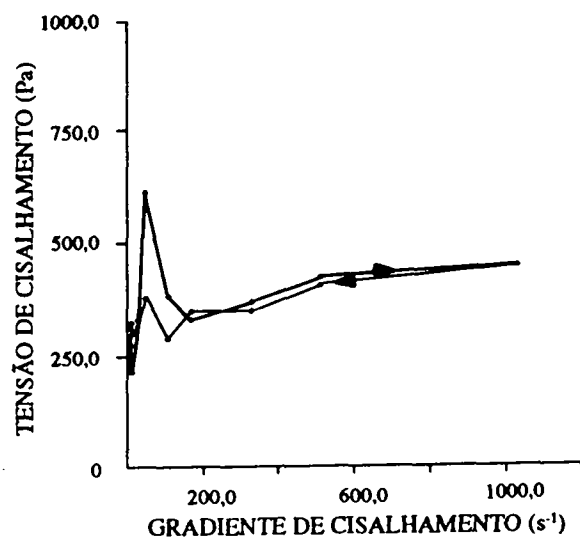


FIGURA 25 - Reograma da base hidrofílica.

renciada. Por isso, foi necessário o tratamento prévio do mesmo.

Entre as substâncias empregadas como umectantes e solubilizantes salientam-se os tensioativos, especialmente os do tipo não iônico que apresentam elevados valores de EHL (Equilíbrio hidrófilo-lipófilo) (CARVALHO, 1976), como os polissorbatos (THE UNITED, 1985). Esta classe de tensioativos destaca-se das demais, por não causar irritação, ser quimicamente estável e compatível com drogas e adjuvantes aniônicos, não iônicos e catiônicos (THE UNITED, 1985).

O extrato concentrado foi homogeneizado com polissorbato 80 na proporção de 14,15%, resultando numa massa pastosa homogênea que foi incorporada, em pequenas quantidades, às bases de pomada pelo método da diluição geométrica.

São diversos os testes e ensaios que podem ser executados para a avaliação da qualidade de pomadas. De modo geral, as Farmacopéias apenas preconizam o controle de qualidade pertinente a identificação e quantificação das substâncias ativas e o controle microbiológico. Todavia, é de fundamental importância submeter as formulações plásticas não somente a estes ensaios mencionados mas, igualmente, à avaliação de suas propriedades reológicas, pois as mesmas podem influenciar sobremaneira a qualidade e a estabilidade do produto (DAVIS, 1974, 1984).

A avaliação qualitativa das pomadas hidrofílica e MEG, feita por cromatografia em papel (Figura 13, p.110), reproduziu o mesmo perfil cromatográfico encontrado para a droga vegetal e para os extratos EpA e EC.

A determinação quantitativa das formulações baseou-se no doseamento de quercetina por CP/UV.

Para determinar a exatidão do método foram preparadas pomadas-padrão de quercetina tratada com polissorbato 80, nas concentrações de 3, 6, 9 e 12 mg/g de pomada. Os resultados dos ensaios estão relacionados na tabela 31 (p.11). De acordo com a análise de variância não houve diferença significativa entre os teores de quercetina detectados e incorporados ($\alpha \leq 0,05$). A exatidão do método, expressa pela média dos valores da taxa de recuperação nos quatro níveis de concentração, foi de $96,82\% \pm 2,472$ ($p = 0,05$).

Os teores de quercetina nas pomadas relacionados na tabela 32 (p.111), demonstram que os valores calculados correspondem aos valores esperados. As diferenças encontram-se dentro dos limites de aceitação do método.

Também na avaliação microbiológica, tanto as pomadas hidrofílica e MEG, quanto suas respectivas bases, apresentaram resultados de acordo com as especificações farmacopéicas (Tabelas 30 e 40, p.109 e 118).

Com relação aos índices de óleo, a análise dos dados das tabelas 24 e 33 (p.104 e 111) revela que a adição de extrato tratado às bases de pomada ocasionou diminuição nos seus valores. Para a base hidrofílica o decréscimo foi de 22,64% e para a base MEG de 14,47%. Estes resultados sugerem que o extrato tratado pode tanto reforçar o armazenamento da fase líquida na fase sólida da pomada, como aumentar a viscosidade da fase líqui-

da.

Os valores da espalhabilidade das pomadas hidrofílica e MEG estão descritos nas tabelas 34 e 35 (p.112 e 113). A representação gráfica da espalhabilidade em função da massa aplicada (Figura 26) revela comportamentos semelhantes aos obtidos para as respectivas bases (Tabelas 26 e 27 (p.105 e 106), Figura 22). A incorporação de extrato tratado à base hidrofílica provocou redução de 169,54% no valor máximo da espalhabilidade enquanto que, para a base MEG esta redução foi de 128,82%. Assim, a pomada MEG apresentou espalhabilidade de 7947,49 mm^2/g de pomada enquanto

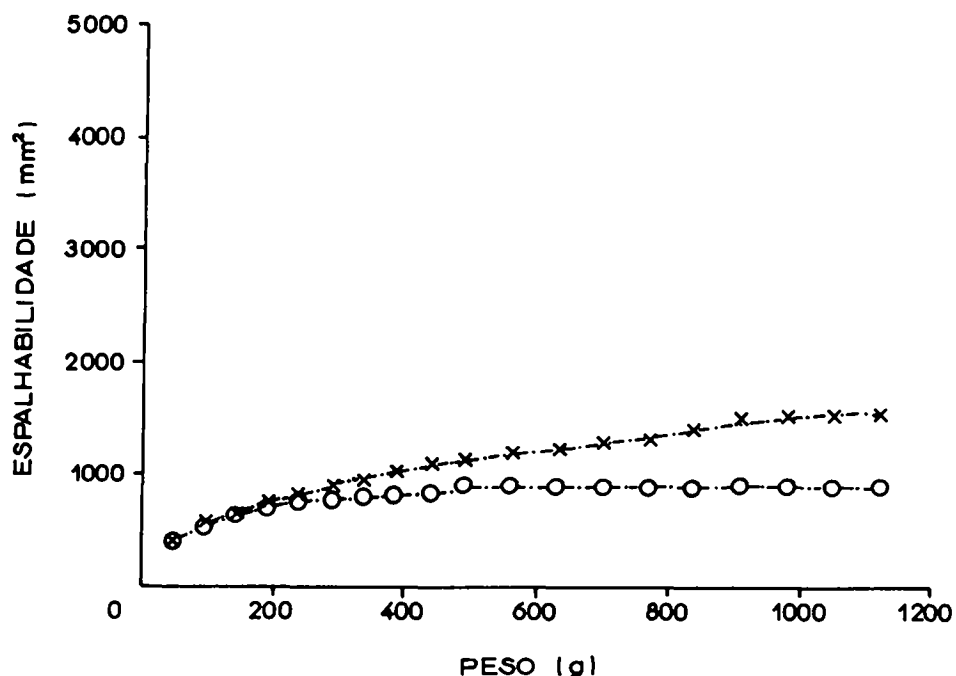


FIGURA 26 - Espalhabilidade das pomadas hidrofílica (o---o) e monoestearato de glicerila (x---x) em função do peso adicionado.

que a pomada hidrofílica abrangeu $3573,08 \text{ mm}^2/\text{g}$. Os incrementos percentuais de área para as pomadas hidrofílica e MEG foram semelhantes até o esforço de $238,72 \text{ g}$. A partir desta massa, a pomada hidrofílica apresentou início de sinerese. Para a pomada MEG este fenômeno foi observado com o esforço de $490,41 \text{ g}$. Porém, ao contrário da pomada hidrofílica, esta evidência não se exarcebou com o acréscimo de placas-carga. Estes dados demonstram que o acréscimo de extrato influenciou negativamente na espalhabilidade das formulações, e que tal influência foi mais acentuada na base hidrofílica. As equações que descrevem o comportamento das pomadas e respectivas bases com relação à espalhabilidade, estão descritas na tabela 72.

Os dados das tabelas 29 e 37 (p.108 e 115) demonstram que a adição de extrato à base MEG ocasionou aumento nas tensões de cisalhamento e conseqüentemente, nos valores das viscosidades. O reograma da pomada MEG (Figura 23), igualmente ao verificado para a respectiva base, reflete o caráter tixotrópico da formulação.

O grau de tixotropia, calculado através da área entre as curvas do reograma (AEC), revela um aumento de 34,42% no valor da tixotropia da base MEG pela incorporação de extrato tratado.

A perturbação da estrutura interna do sistema ocasionada pela aplicação de diferentes tensões, também foi avaliada pela análise da representação esquemática dos reogramas (explicação vide item 2.2.3.4.5., p.70) (Figura 27). Neste procedimento, a relação das inclinações das retas (a/b) traduz o grau de tixo-

TABELA 72 - Equações de espalhabilidade das pomadas e respectivas bases.

Formulação	Equação
Base	
Hidrofilica	$E_i = -2,7266 \cdot 10^{-3} \cdot p_i^2 + 4,6751 \cdot p_i + 505,833$ $r^2 = 0,9824$ DMQ = 5780,3146
MEG	$E_i = -4,5352 \cdot 10^{-3} \cdot p_i^2 + 7,6792 \cdot p_i + 1470,8472$ $r^2 = 0,9501$ DMQ = 43999,3350
Pomada	
Hidrofilica	$E_i = -7,8585 \cdot 10^{-4} \cdot p_i^2 + 1,2283 \cdot p_i + 466,935$ $r^2 = 0,9093$ DMQ = 1682,95
MEG	$E_i = 76,9189 \cdot p_i^{0,4310}$ $r^2 = 0,9973$ DMQ = 458,1128

p_i = peso. r^2 = coeficiente de determinação. DMQ = desvio médio quadrático.

tropia. Este aumentará com o decréscimo da razão a/b. Para a base e a pomada MEG estes valores foram respectivamente 0,83 e 0,76 confirmando o carácter tixotrópico mais acentuado da pomada. Outra alteração no comportamento reológico plástico, ocasionada pela adição de extrato tratado, pode ser comprovada pelo acréscimo de 49,09% no limite de fluidez (Figura 28).

O reograma da pomada hidrofílica, embora de modo não tão acentuado quanto o de sua base, igualmente revelou efeito Weissenberg (Figura 29). Devido a isso, não foi possível determinar suas características reológicas nas condições experimentais utilizadas.

A cedência ou liberação "in vitro" é um parâmetro fundamental no desenvolvimento de formulações, pois serve como indicativo da qualidade do produto. No entanto, para as pomadas, ao contrário de outras formas farmacêuticas, não existe método de liberação preconizado nos códigos oficiais.

É importante ressaltar que apesar de diversos modelos terem sido propostos na literatura, os requisitos de padronização, reprodutibilidade, validação e reconhecimento internacional não foram totalmente preenchidos.

Para a determinação dos perfis de biodisponibilidade das pomadas hidrofílica e MEG foi desenvolvido um dispositivo de liberação (Figura 7, p.79) multicompartimental no qual as fases doadora e aceptora foram separadas por membrana de éster de celulose. As experimentações foram realizadas em sistema fechado, o qual ocasionou a concentração das substâncias ativas no meio de cedência, propiciando a quantificação de quercetina pelo método CP/UV.

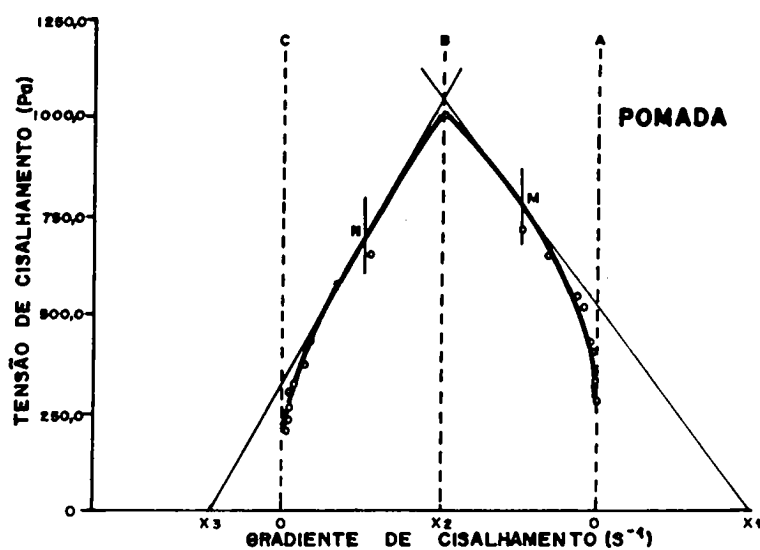
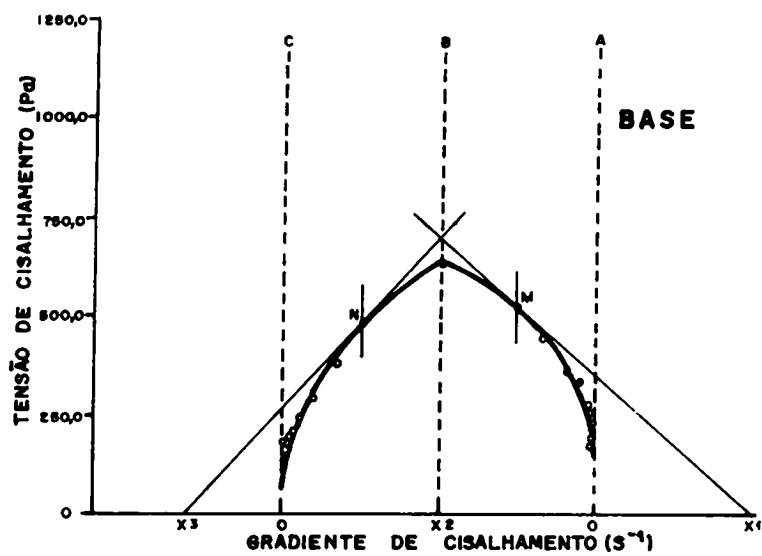


FIGURA 27 - Representação esquemática para análise do reograma da base e da pomada monoestearato de glicerila.

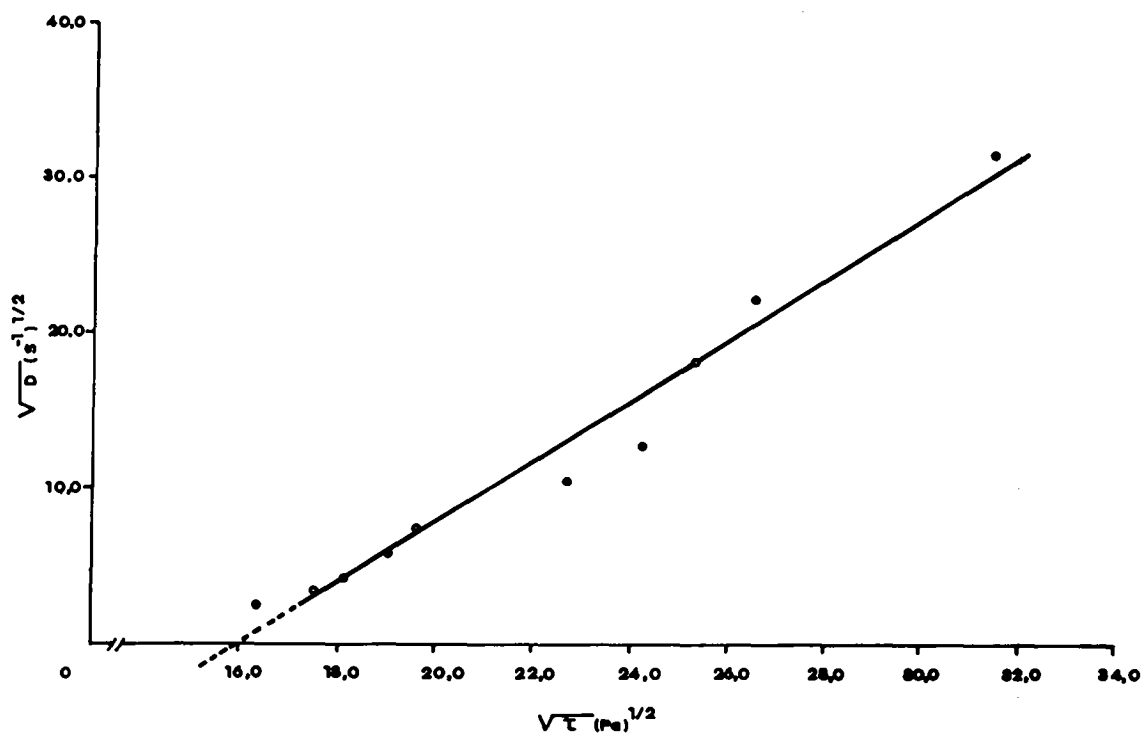


FIGURA 28 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_t) da pomada monoestearato de glicerila. τ = tensão de cisalhamento. D = gradiente de cisalhamento.

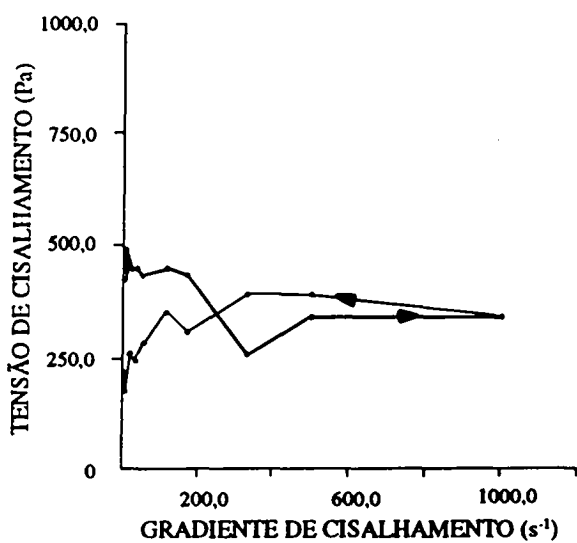


FIGURA 29 - Reograma da pomada hidrofílica.

Os perfis de biodisponibilidade da quercetina contida nas formulações podem ser visualizados na figura 30. Fica evidente a semelhança dos comportamentos de liberação embora a pomada MEG tenha apresentado valores inferiores em todos os tempos de amostragem. Na tabela 38 (p.116) estão relacionados os valores de quercetina liberada em função do tempo. O valor total de quercetina liberada após 10 horas de ensaio, para a pomada MEG, foi de 392,58 μg e, para a hidrofílica, foi de 402,79 μg demonstrando uma diferença de liberação total, não significativa de 2,53% ($\alpha \leq 0,05$).

Para a parametrização das curvas de cedência e com o objetivo de comparação efetiva da liberação "in vitro" foi utilizado o cálculo das áreas sob as curvas (ASC). Os resultados estão descritos na tabela 39 (p.117). Através de análise estatística constata-se que a diferença entre os mesmos não é significativa para $\alpha \leq 0,05$.

Devido as limitações de equipamento que impossibilitaram a avaliação das características reológicas da pomada hidrofílica e considerando que estas determinações são fundamentais no estudo da estabilidade de formulações semi-sólidas, pois alterações físicas do sistema poderão afetar a uniformidade de dosagem e a biodisponibilidade (DAVIS, 1984; RENG, 1984), somente a pomada MEG foi submetida à averiguação preliminar da estabilidade.

Para tanto, foi realizado ensaio de decomposição acelerada mediante degradação térmica. A pomada armazenada a 45°C, já no terceiro dia de armazenamento, apresentou separação comple-

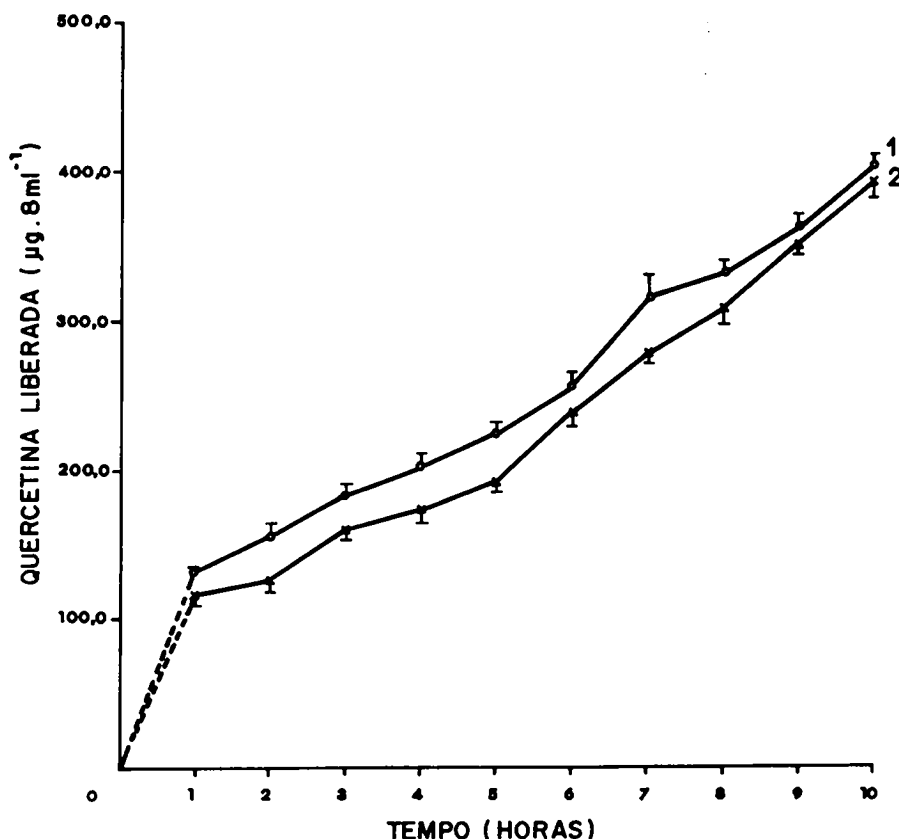


FIGURA 30 - Perfis de liberação de quercetina das pomadas hidrofílica (1) e monoestearato de glicerila (2).

ta das fases. Para verificar a possível causa, a base foi submetida a condições idênticas às descritas para a pomada, sendo avaliada após 14 dias. Analisando-se os resultados obtidos, constata-se que a temperatura, embora tenha afetado as características reológicas da base, não ocasionou separação das fases. Este fato sugere que a instabilidade observada para a pomada seja devido ao acréscimo de extrato tratado. Este poderia interferir no equilíbrio termodinâmico interfacial através de reações químicas ou interações físicas com os componentes da base, bem como pela modificação da relação entre as fases ou ao aumento da concentração da fase líquida. Os dados da tabela 41 (p.119)

demonstram a manutenção do teor de quercetina da pomada descartando, portanto, a interação química entre a quercetina e os demais componentes da formulação.

Com base nos resultados das tabelas 42 e 43 (p.120 e 121) e na figura 31, verifica-se que a temperatura influenciou negativamente a espalhabilidade da base MEG. Embora a base mantida a 45°C tenha apresentado incrementos percentuais de área semelhantes aos da base mantida em temperatura ambiente ($20 \pm ^\circ\text{C}$), seus valores de espalhabilidade foram inferiores, atingindo uma redução de 17,06% no valor da espalhabilidade máxima.

As equações que descrevem o comportamento da espalhabilidade da base MEG nas condições em que a mesma foi analisada estão descritas na tabela 73.

Para a determinação dos reogramas, devido as oscilações nos valores de escala do aparelho em baixas velocidades de rotação, as formulações foram avaliadas utilizando-se somente os fatores de velocidade de 18 a 1. Observando-se as tabelas 52 e 53 (p.130 e 131) e a figura 32 constata-se influência da temperatura nas características reológicas da base MEG, a qual se reflete no aumento das tensões de cisalhamento, viscosidade e grau da tixotropia. Este aumenta 151,67% e 37,35% respectivamente pela avaliação da área entre as curvas do reograma e pela relação das inclinações das retas (a/b) para a base mantida na temperatura mais elevada (Tabela 63 (p.141) e Figura 33). Do mesmo modo, verifica-se aumento de 36,50% no ponto de fluidez (Tabela 64 (p.142) e Figura 34).

TABELA 73 - Equações de espalhabilidade (E_i) da base e da pomada monoestearato de glicerila em função da temperatura e do tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Equação
Base		
MEG		
0	ambiente ($20 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	$E_i = -4,1808 \cdot \pi^2 + 7,4252 \cdot \pi + 1505,7653$ $r^2 = 0,96745$ $DMQ = 3010,0990$
14	45	$E_i = -2,9322 \cdot 10^{-3} \cdot \pi^2 + 5,4617 \cdot \pi + 1415,76$ $r^2 = 0,9665$ $DMQ = 19002,7$
Pomada		
MEG		
0	ambiente (20°C)	$E_i = 114,17857 \cdot \pi^{0,4130}$ $r^2 = 0,9902$ $DMQ = 1830,3129$
3	25	$E_i = 71,9303 \cdot \pi^{0,4784}$ $r^2 = 0,9969$ $DMQ = 719,0635$
3	35	$E_i = 84,5489 \cdot \pi^{0,4441}$ $r^2 = 0,9966$ $DMQ = 570,4134$

TABELA 73 - (cont.) Equações de espalhabilidade (E_i) da base e da pomada monoestearato de glicerila em função da temperatura e do tempo de armazenamento.

Tempo (dias)	Temperatura (°C)	Equação
6	25	$E_i = 72,1560 \cdot p_i^{0,4732}$ $r^2 = 0,9936$ DMQ = 2153,7044
6	35	$E_i = 77,7237 \cdot p_i^{0,4533}$ $r^2 = 0,9983$ DMQ = 338,02
10	25	$E_i = 91,5577 \cdot p_i^{0,4487}$ $r^2 = 0,9889$ DMQ = 1773,4774
10	35	$E_i = 94,23900 \cdot p_i^{0,4167}$ $r^2 = 0,9988$ DMQ = 217,8557
14	25	$E_i = 76,9785 \cdot p_i^{0,4678}$ $r^2 = 0,9980$ DMQ = 768,9474
14	35	$E_i = 132,4839 \cdot p_i^{0,3637}$ $r^2 = 0,9848$ DMQ = 2379,4604

p_i = peso. r^2 = coeficiente de determinação. DMQ = desvio médio quadrático.

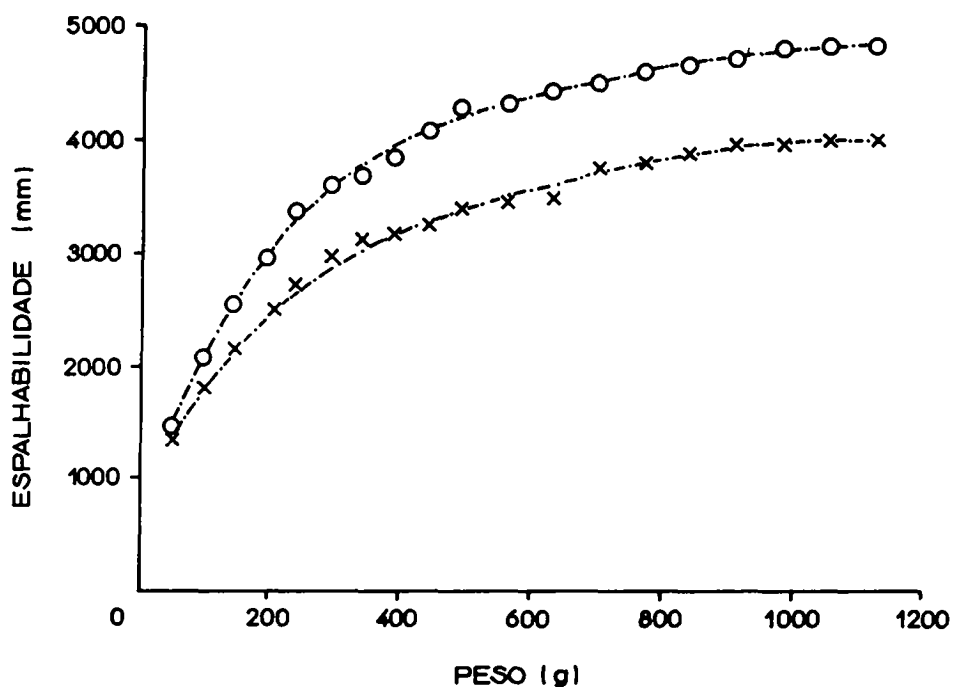


FIGURA 31 - Espalhabilidade da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, tempo zero (o---o), 45°C , 14 dias (x---x).

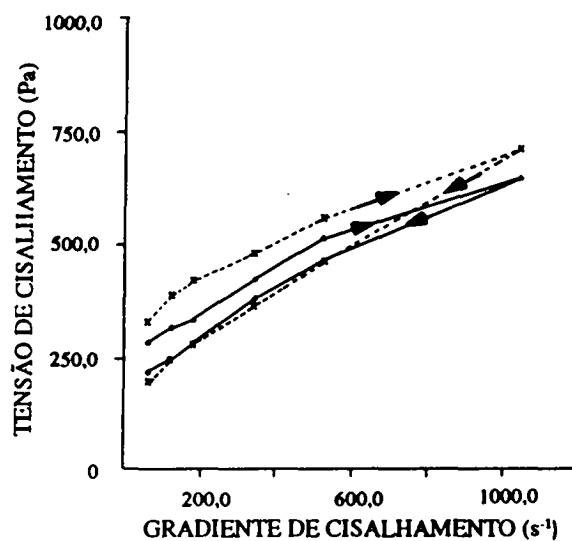


FIGURA 32 - Reogramas da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, tempo zero (o—o), 45°C , 14 dias (x---x).

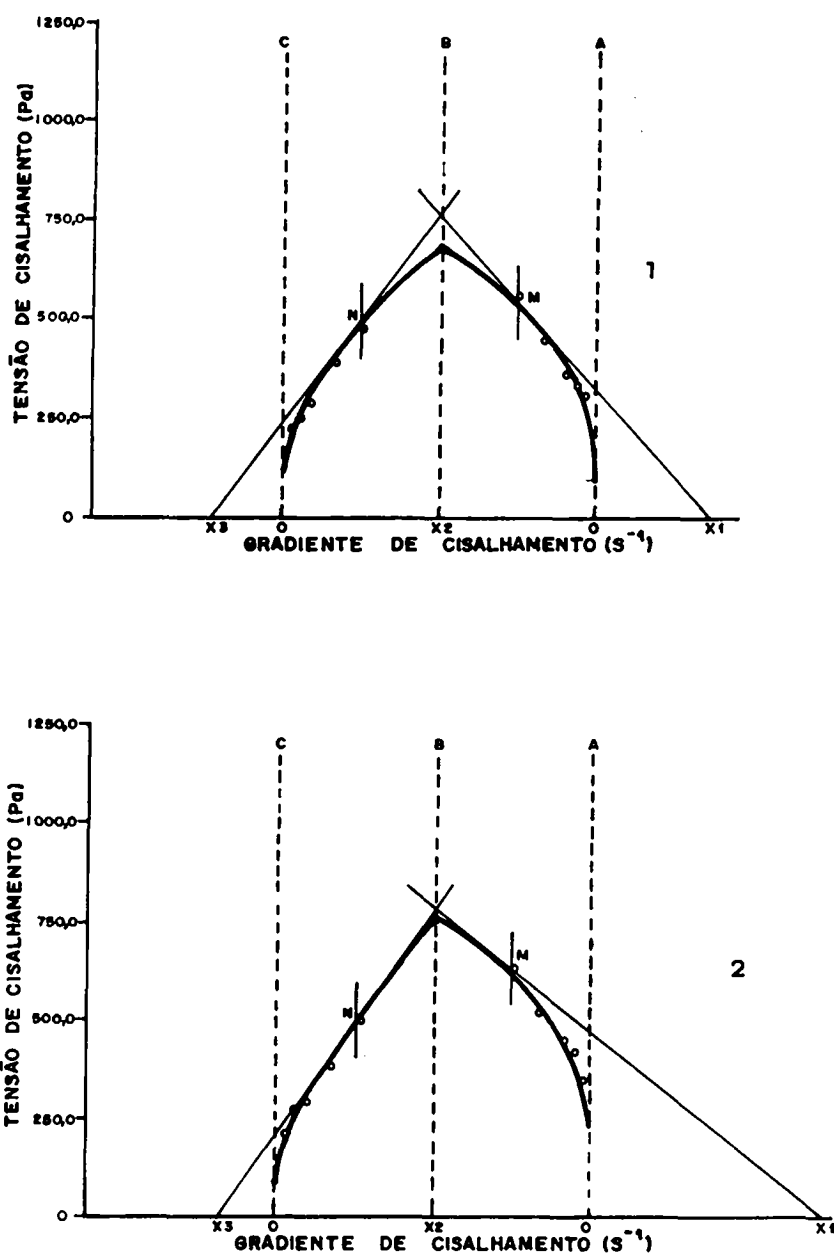


FIGURA 33 - Representação esquemática para análise dos reogramas da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, tempo zero (1), 45°C , 14 dias (2).

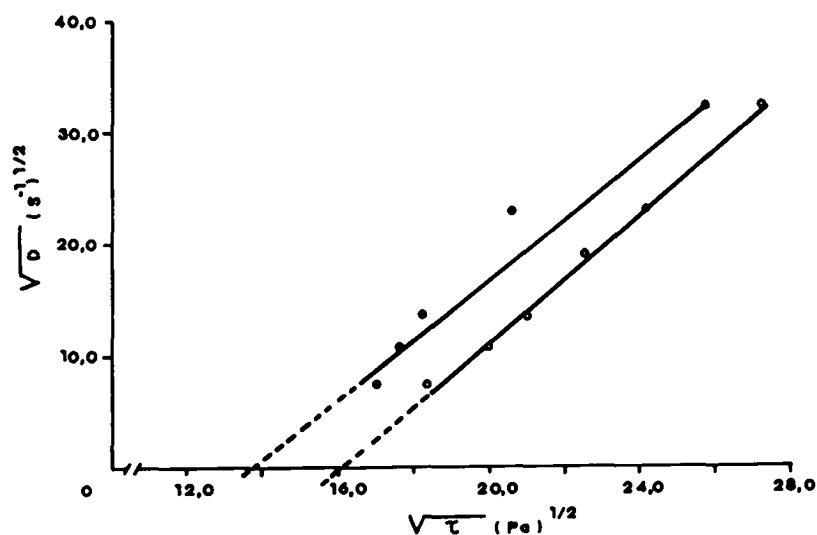


FIGURA 34 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_t) da base monoestearato de glicerila em função do tempo e da temperatura de armazenamento. $20\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, tempo zero ($\bullet\text{---}\bullet$), 45°C , 14 dias ($\circ\text{---}\circ$).

As tabelas 44 a 51 (p.120 a 129) e as figuras 35 e 36 demonstram a influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre a espalhabilidade da pomada MEG. Através da análise destes dados verifica-se que os incrementos percentuais de área obtidos para a pomada nos diferentes tempos e temperaturas de armazenamento são semelhantes. Procedendo-se análise estatística para verificar a diferença entre os valores da espalhabilidade máxima constata-se que, embora a temperatura a 25°C não exerceu influência significativa sobre a espalhabilidade da pomada ($\alpha \leq 0,05$) até o décimo quarto dia de armazenamento, a temperatura a

35°C influenciou negativamente a espalhabilidade. Esta influência se refletiu a partir do sexto dia de armazenamento e aumentou significativamente com o passar do tempo.

Equações potenciais mostraram-se adequadas para descrever o comportamento de espalhabilidade da pomada. Estas encontram-se descritas na Tabela 73 juntamente com os respectivos coeficientes de determinação e desvios médios quadráticos.

A base e a pomada preparadas para o teste de estabilidade mostraram o mesmo comportamento reológico (Figura 37) apresentado durante a fase de pré-formulação (Figura 23). Igualmente repetiram-se as alterações no grau de tixotropia calculado através da AEC (Tabela 63, p.141) e através da relação das inclinações das retas (a/b) (Figura 38). O acréscimo do EC também ocasionou aumento significativo ($\alpha \leq 0,05$) no ponto de fluidez (Figuras 34 e 39).

Analisando-se os dados da tabela 41 (p.119) verifica-se que os valores de quercetina das formulações não diferiram significativamente entre si ($\alpha \leq 0,05$).

Os reogramas da pomada MEG em função do tempo e da temperatura de armazenamento estão representados nas figuras 40 e 41. Os respectivos valores das tensões de cisalhamento e do gradiente de cisalhamento constam nas tabelas 54 a 62 (p.132 a 140). Estes dados denotam a influência da temperatura sobre as características reológicas da pomada, a qual pode ser estimada considerando-se o coeficiente de variação de 2,84% obtido nas experimentações e o limite de 5% de probabilidade de erro. Deste

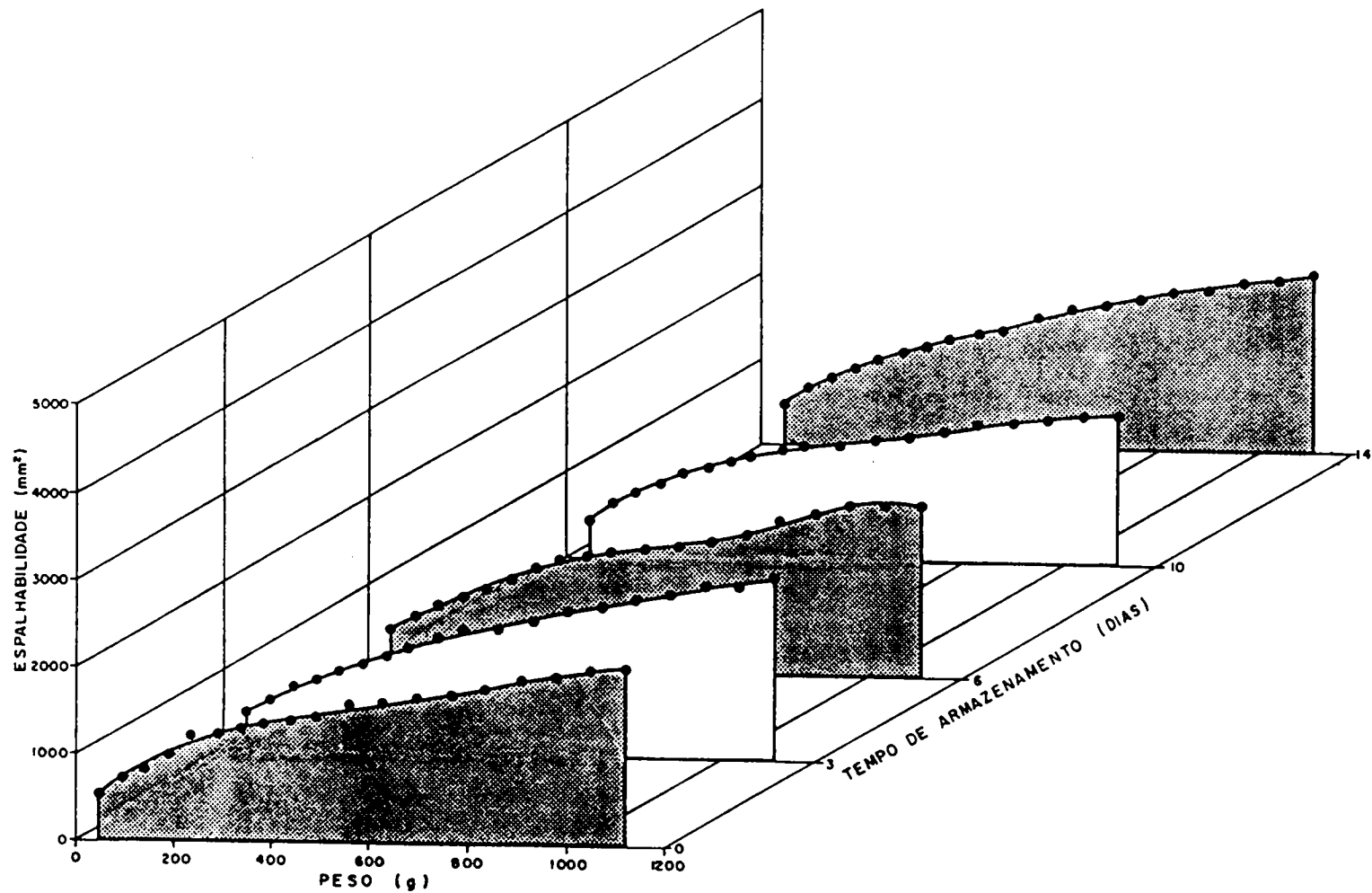


FIGURA 35 - Espalhabilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

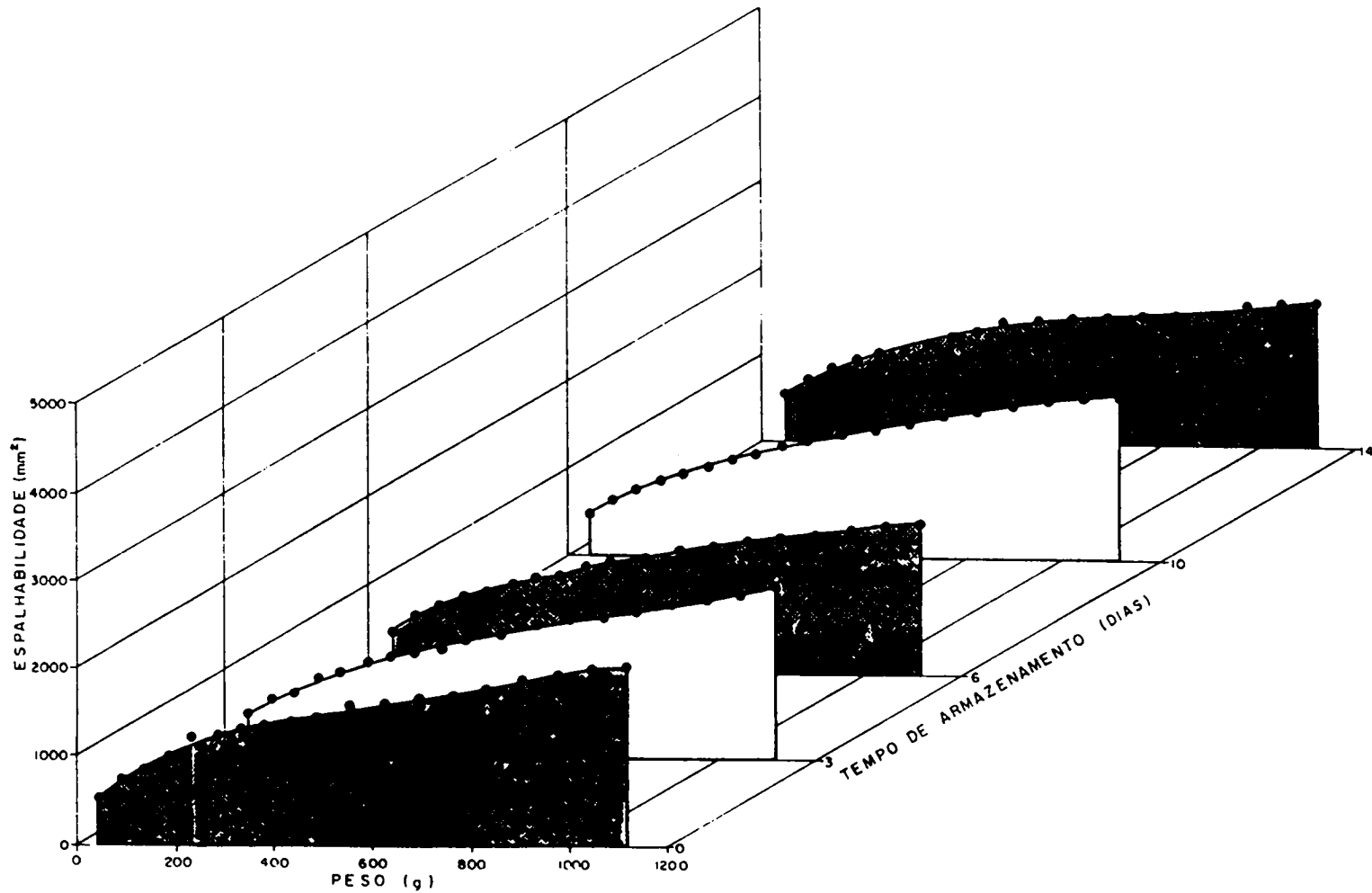


FIGURA 36 - Espalhabilidade da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

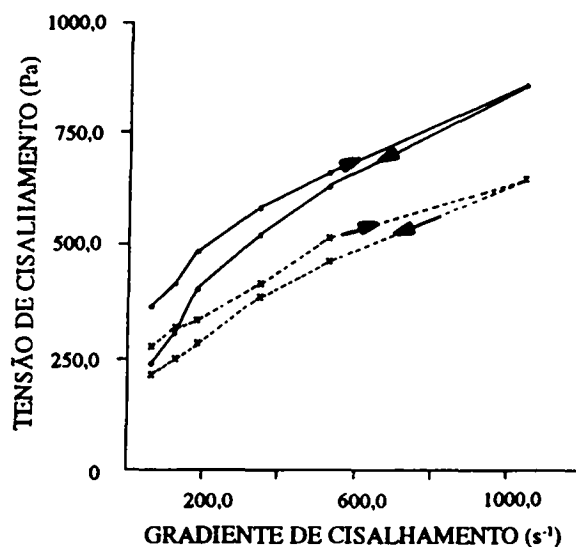


FIGURA 37 - Reograma da base (x---x) e da pomada monoestearato de glicerila (o—o).

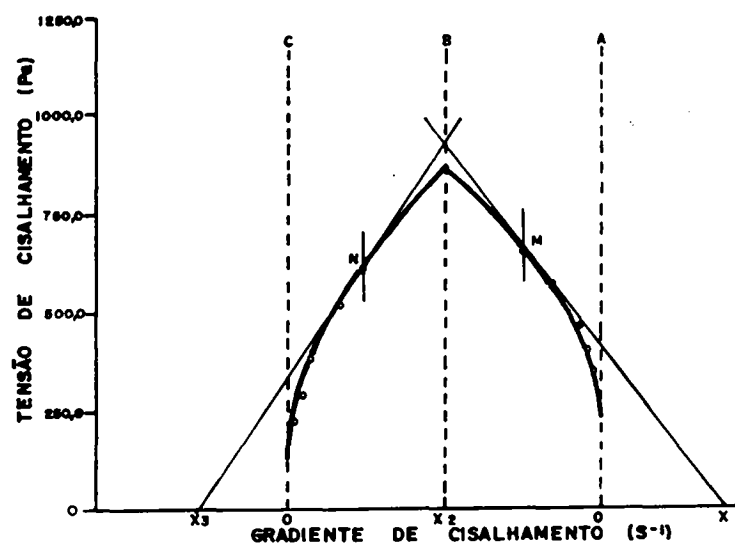


FIGURA 38 - Representação esquemática para análise do reograma da pomada monoestearato de glicerila.

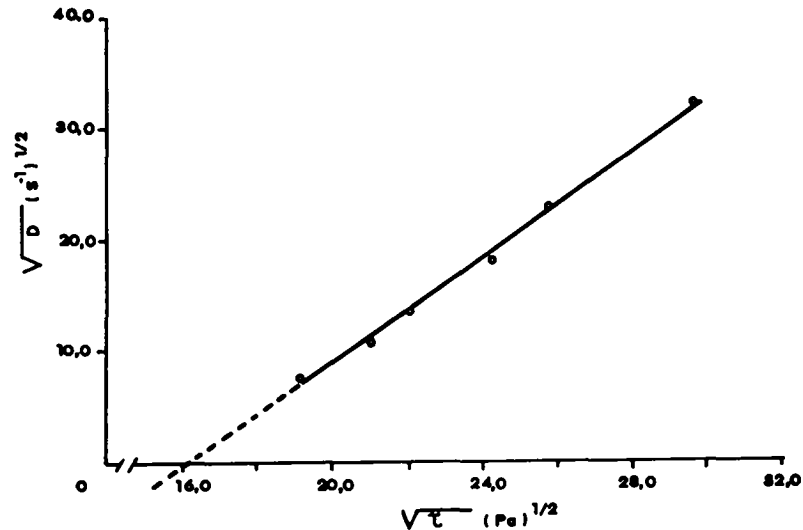


FIGURA 39 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_t) da pomada monoestearato de glicerila. τ = tensão de cisalhamento. D = gradiente de cisalhamento.

modo, analisando-se estatisticamente os valores da tabela 63 (p.141) verifica-se que, no transcorrer de 14 dias de armazenamento a 25°C, não houve diferença significativa no comportamento reológico e no grau de tixotropia das formulações, calculado através da área entre as curvas e pela relação das inclinações das retas (a/b) (Figura 42). Procedendo-se análise idêntica das formulações armazenadas a 35°C, constata-se que a temperatura ocasionou aumento significativo no grau de tixotropia, calculado através da área entre as curvas, a partir do décimo dia de armazenamento (Tabela 63 (p.141) e Figura 43). Esta influência não foi significativa pelo método que relaciona as inclinações das retas (a/b) (Tabela 63, p.141).

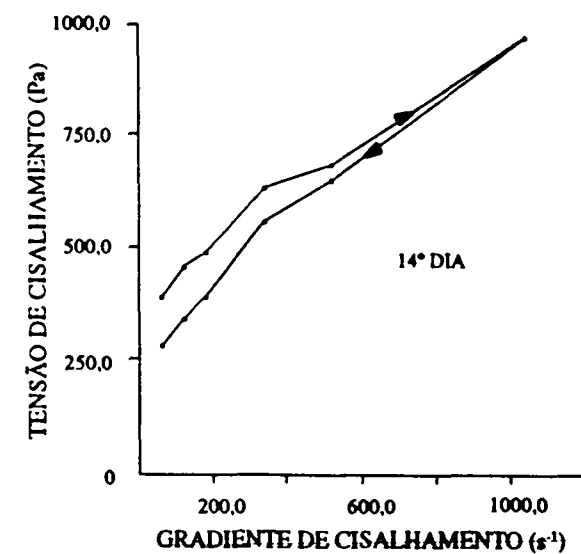
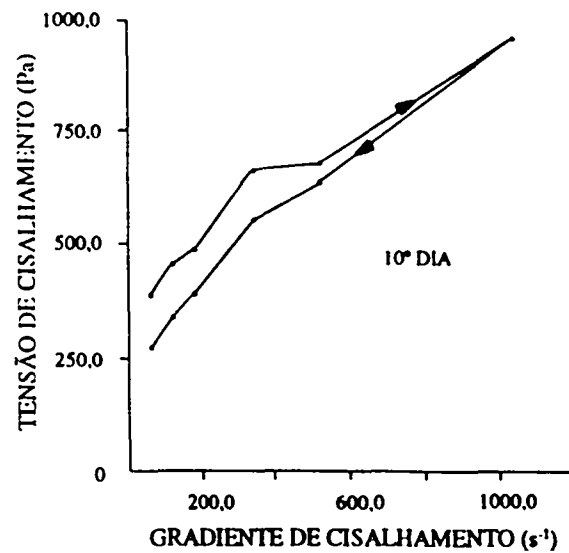
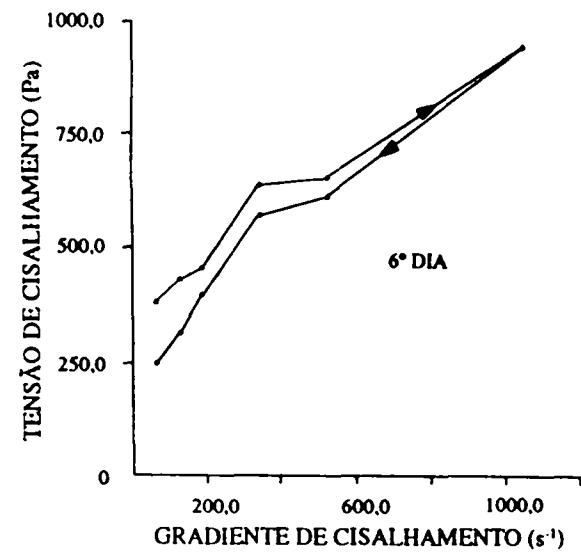
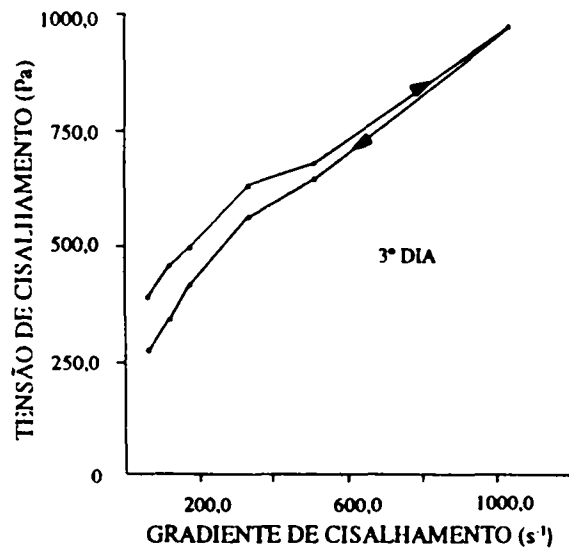


FIGURA 40 - Reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

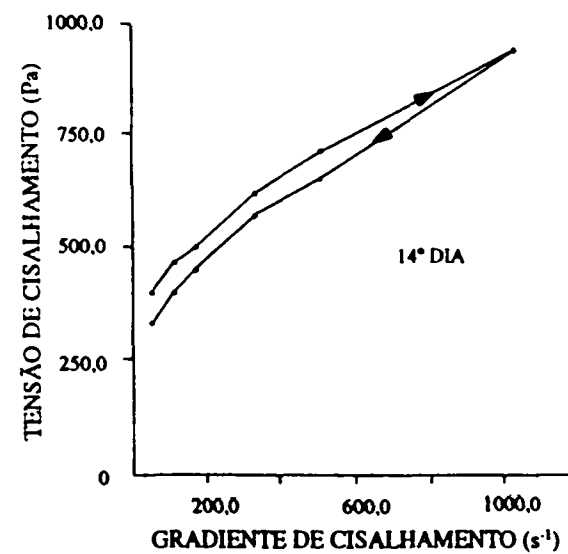
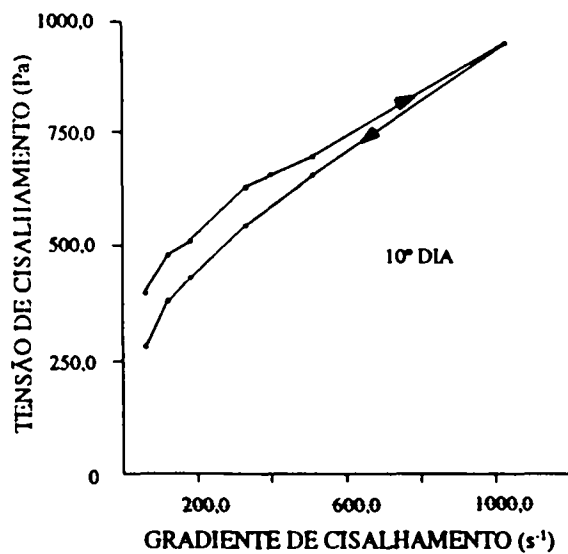
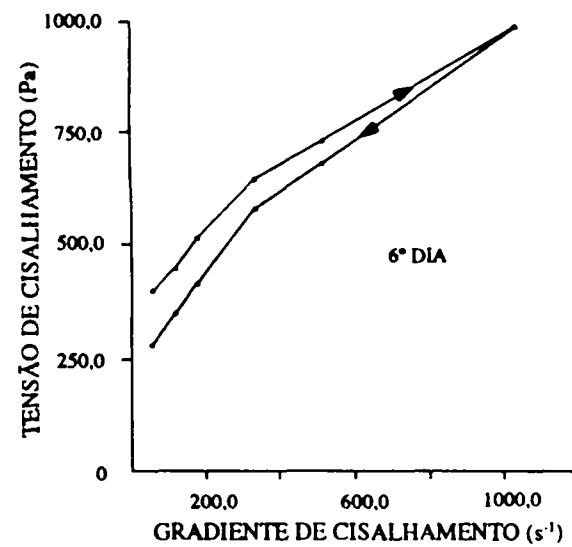
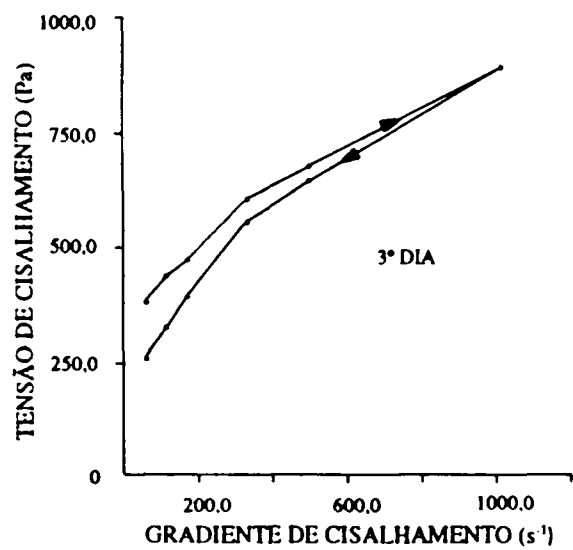


FIGURA 41 - Reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

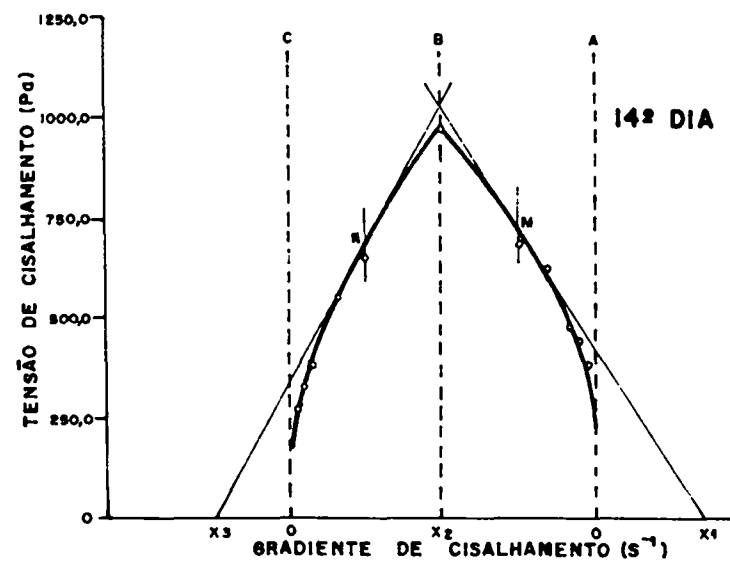
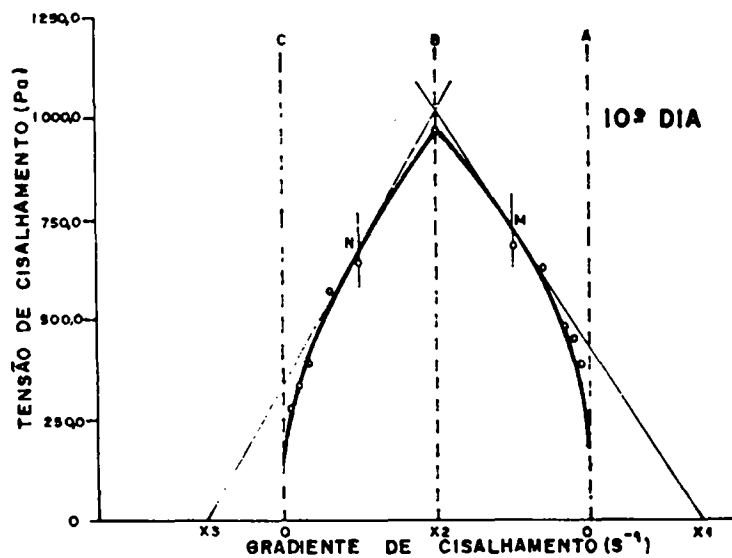
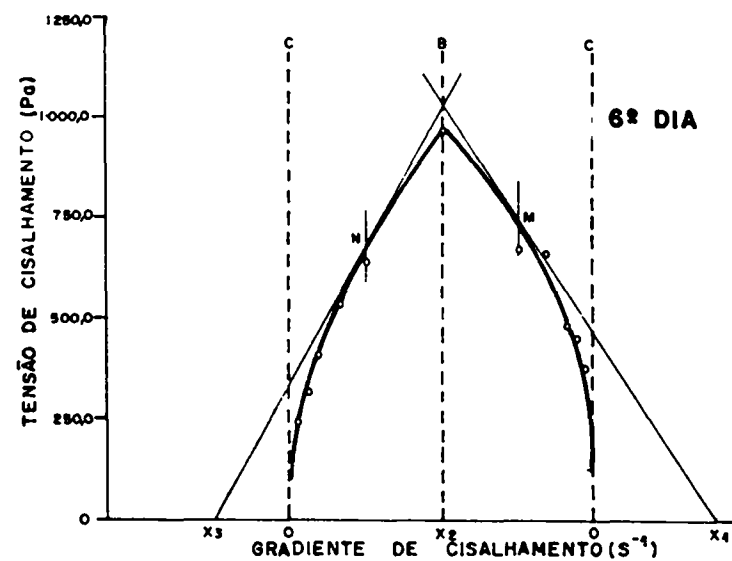
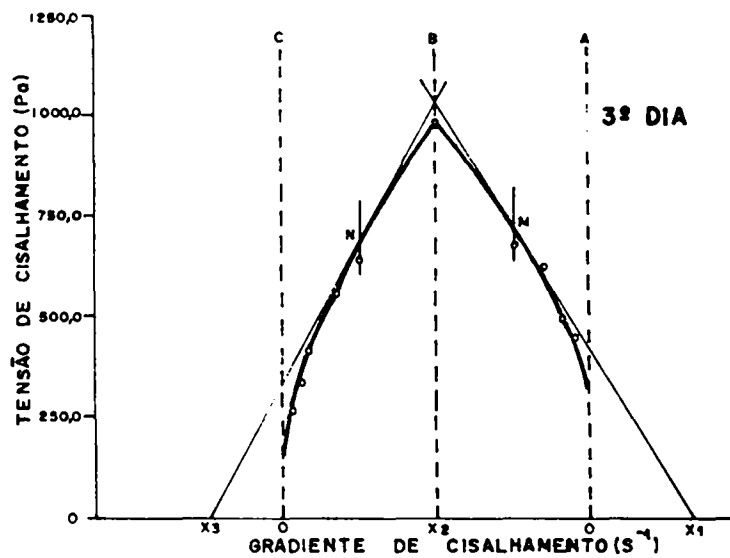


FIGURA 42 - Representação esquemática para análise dos reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

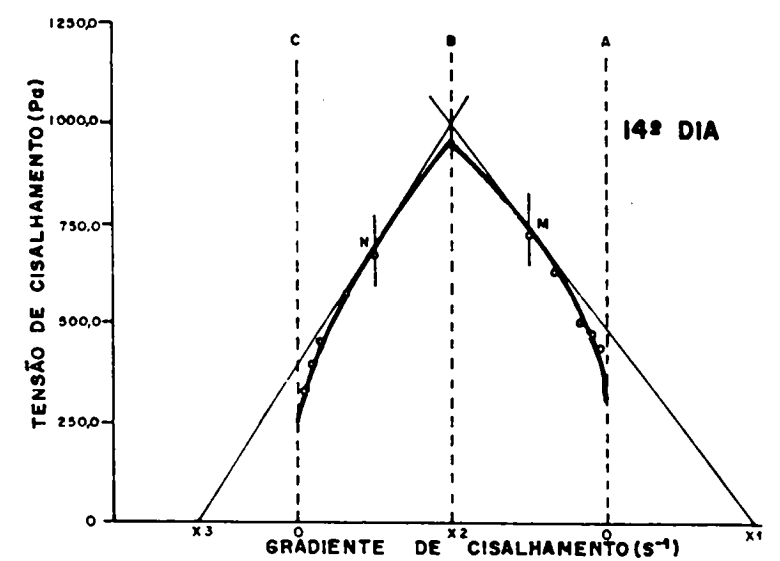
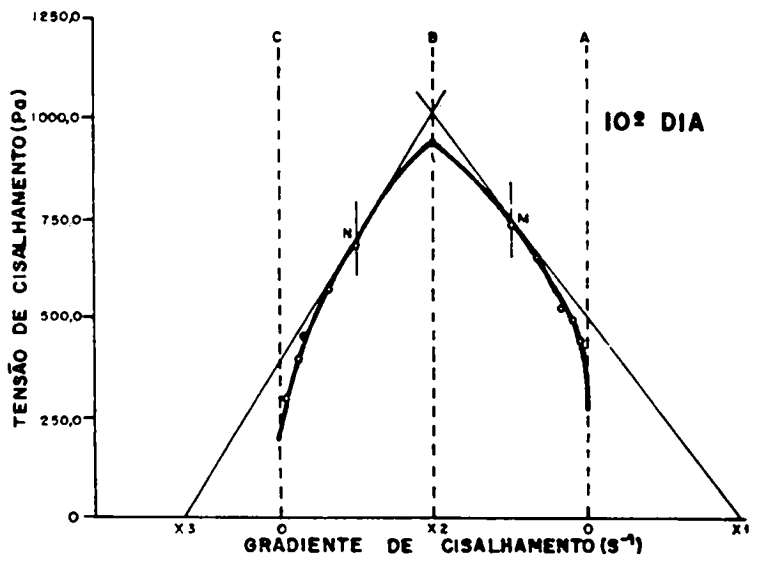
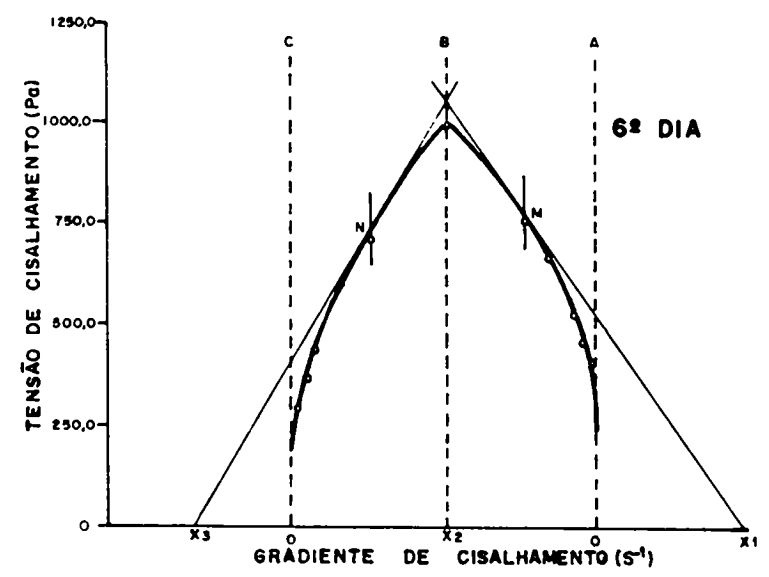
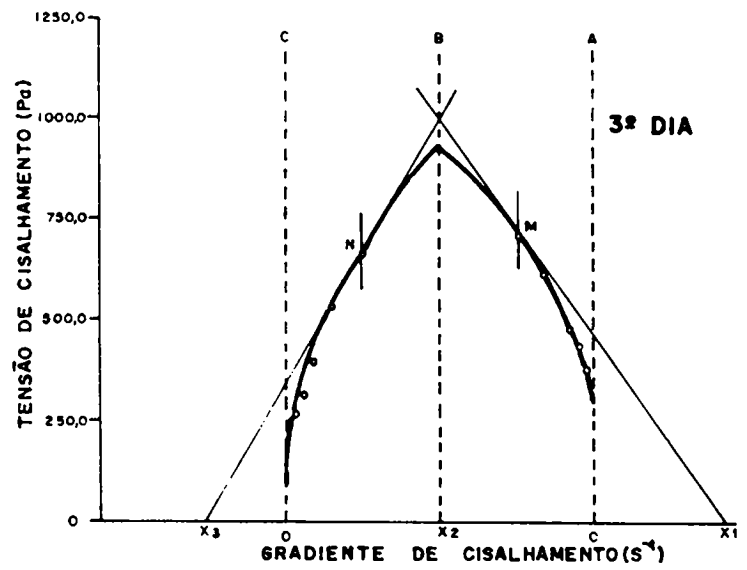


FIGURA 43 - Representação esquemática para análise dos reogramas da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

Na tabela 64 (p.142) e nas figuras 44 e 45 estão representados os limites de fluidez da pomada em função do tempo e da temperatura de armazenamento. Analisando-se estatisticamente os resultados comprova-se que a temperatura aumentou significativamente o limite de fluidez ($\alpha \leq 0,05$). Porém, esta influência se refletiu somente a 35°C a partir do sexto dia de armazenamento. Esta interferência pode ser melhor visualizada na figura 46.

Para a determinação da liodisponibilidade das formulações submetidas ao ensaio preliminar de estabilidade procedeu-se o doseamento de flavonóides totais.

A validação deste procedimento foi feita através da análise estatística das absorvâncias obtidas a partir de diluições da solução-mãe, utilizada na técnica de quantificação (vide item 2.2.4.2.2.8., p.78). A correlação obtida foi altamente significativa e está representada na figura 47.

O perfil de liodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila pode ser visualizado na figura 48.

Os valores de liberação em cada hora de amostragem e das áreas sob as curvas (ASC) constam respectivamente nas tabelas 66 e 69 (p.144 e 146).

Do mesmo modo, nas tabelas 67, 68, 70 e 71 (p.145 a 148) estão relacionados os valores do total de flavonóides liberados e das ASC obtidas nos diferentes tempos e temperaturas de armazenamento.

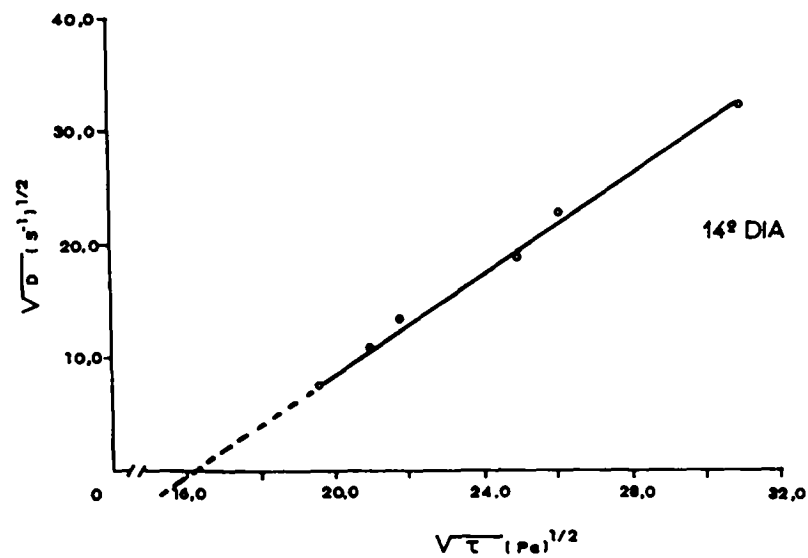
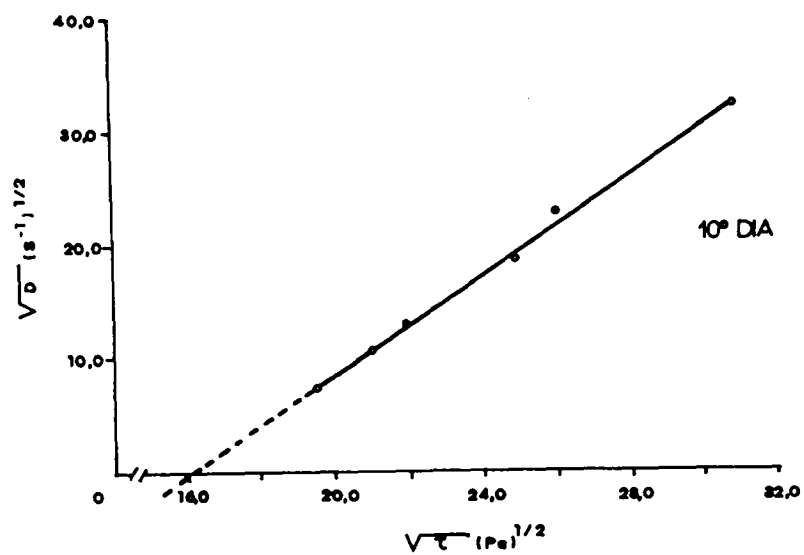
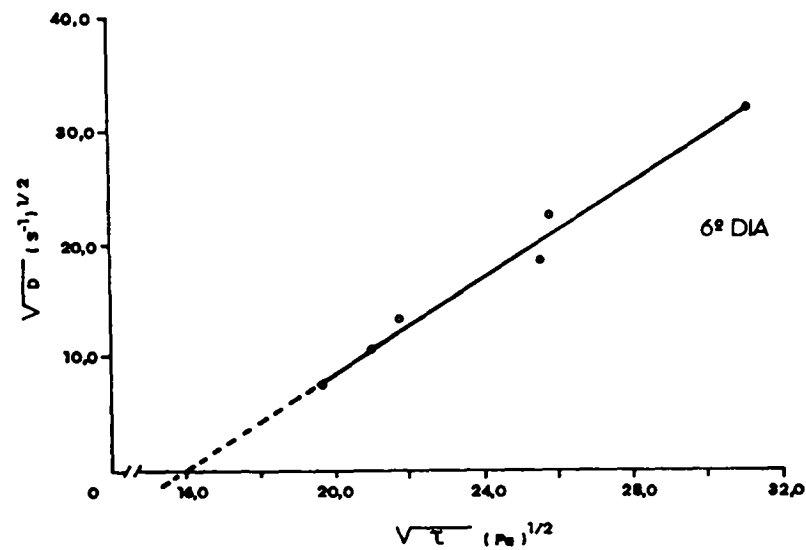
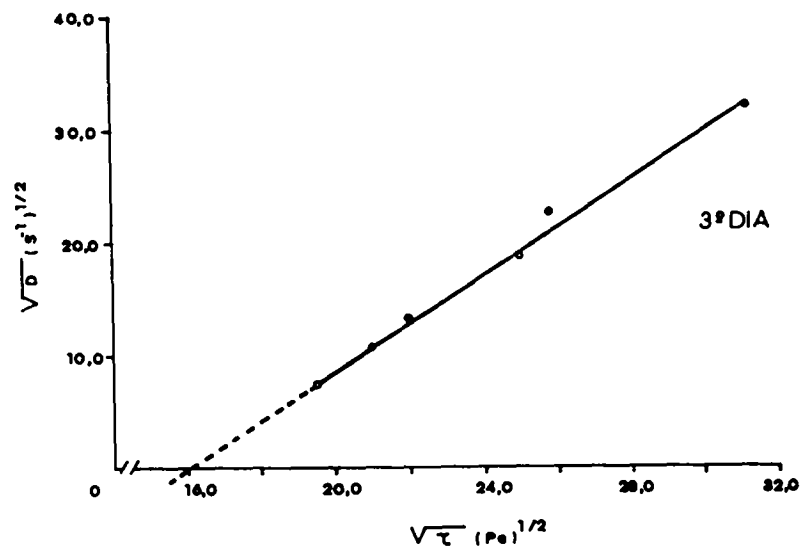


FIGURA 44 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

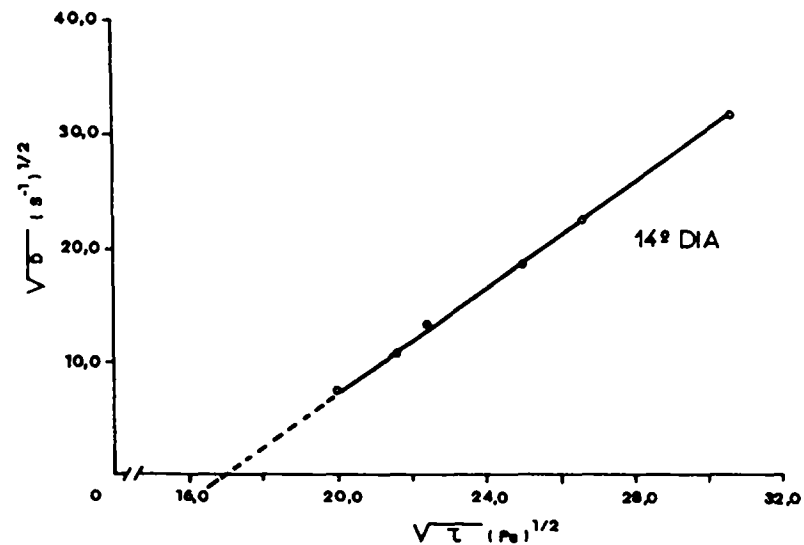
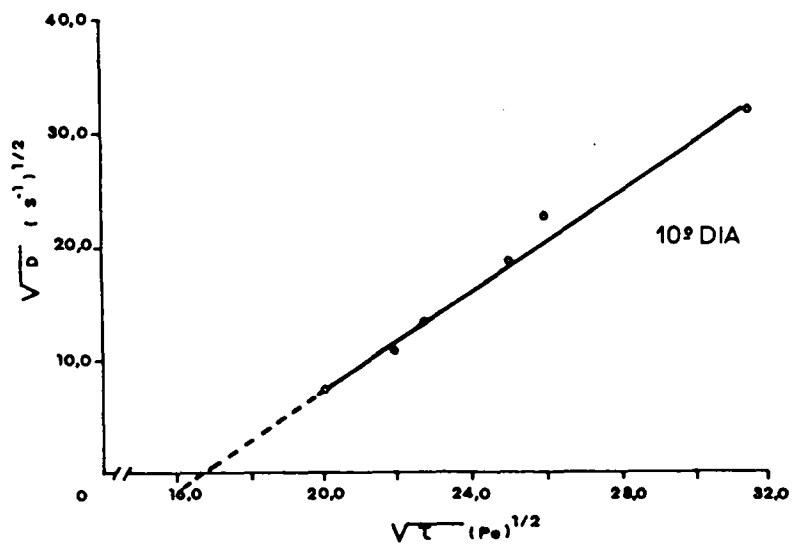
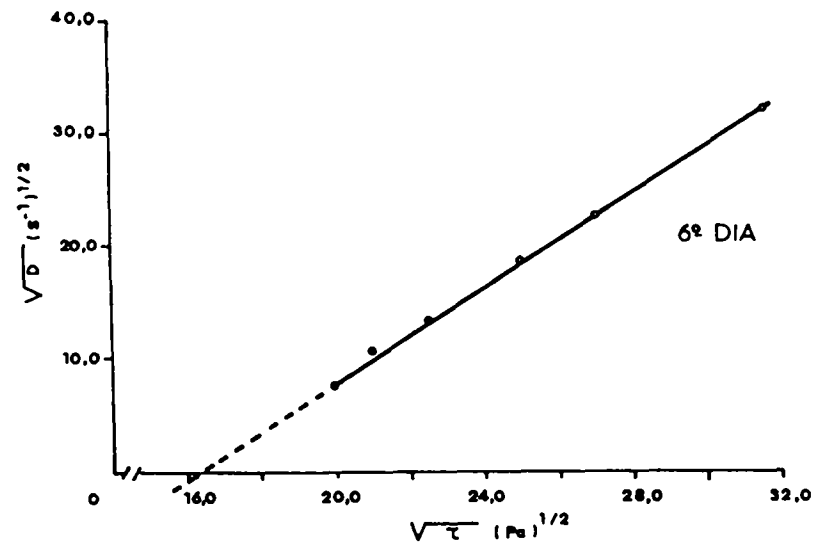
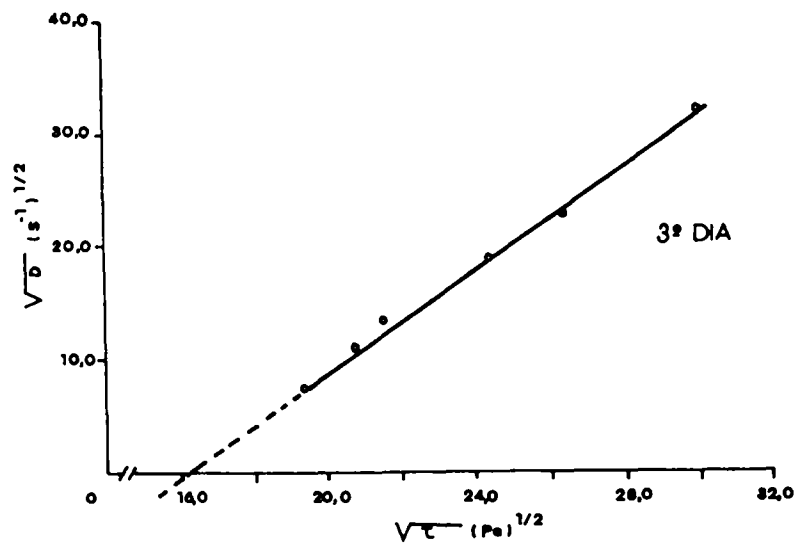


FIGURA 45 - Cálculo gráfico do ponto de fluidez teórico (τ_f) da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

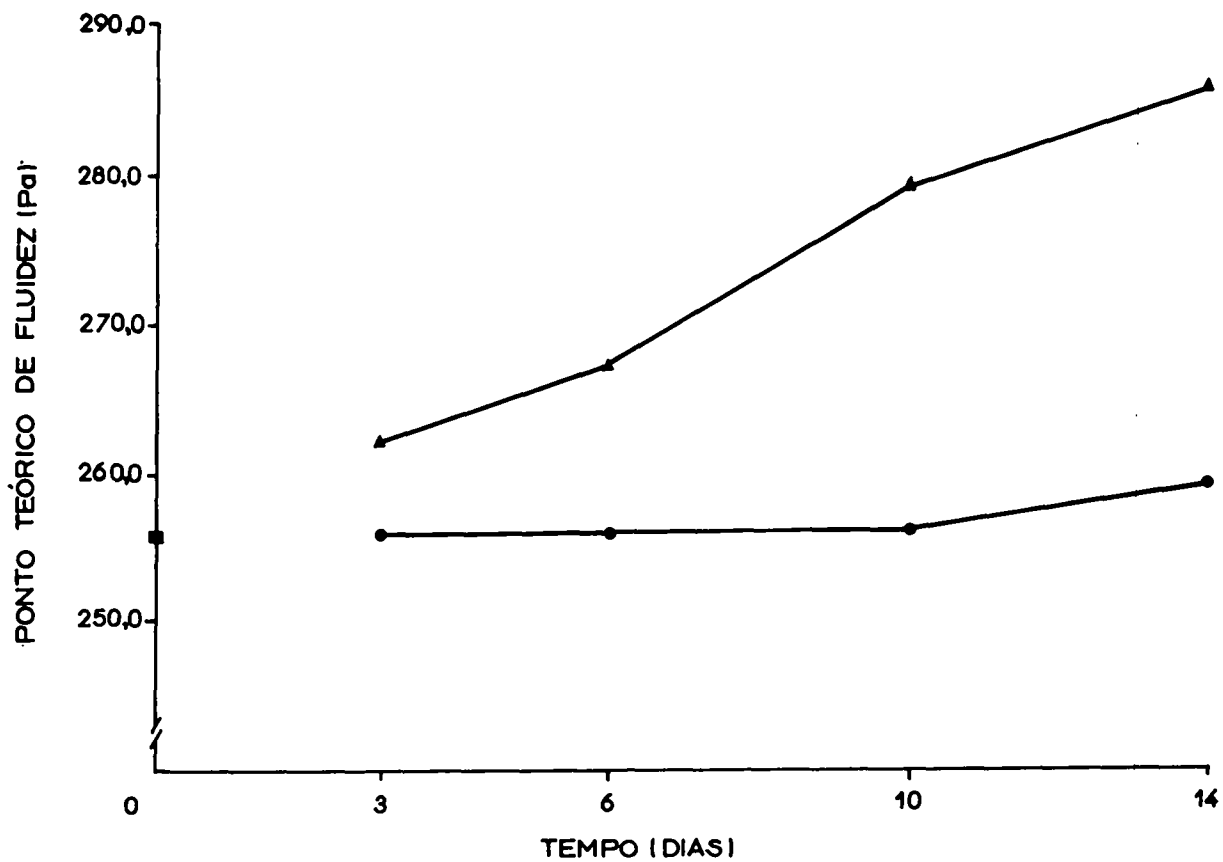


FIGURA 46 - Influência da temperatura e do tempo de armazenamento sobre o limite de fluidez da pomada monoestearato de glicerila. $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$, tempo zero (■) e após armazenamento a 25°C (●—●) e a 35°C (▲—▲).

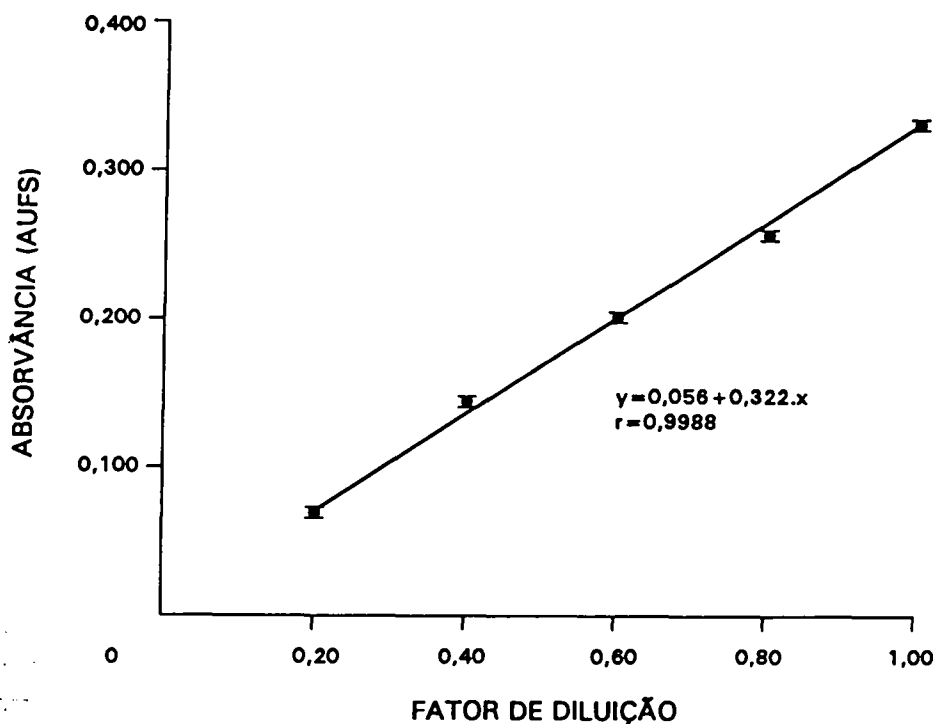


FIGURA 47 - Relação entre diluições da solução-mãe obtidas na técnica de quantificação de flavonóides totais do eluato da décima hora da liodisponibilidade da pomada MEG e as respectivas absorvâncias.

Os respectivos perfis de liodisponibilidade estão representados nas figuras 49 e 50.

Cumprе salientar que, devido à perda de dados, a formulação armazenada durante 3 dias a 35°C foi avaliada comparativamente considerando-se apenas 8 horas de ensaio.

A comparação destes resultados com os obtidos para a pomada analisada no tempo zero, comprova que até o décimo quarto dia de armazenamento a 25°C e a 35°C a temperatura não influenciou significativamente ($\alpha \leq 0,05$) no total de flavonóides liberados e nas ASC.

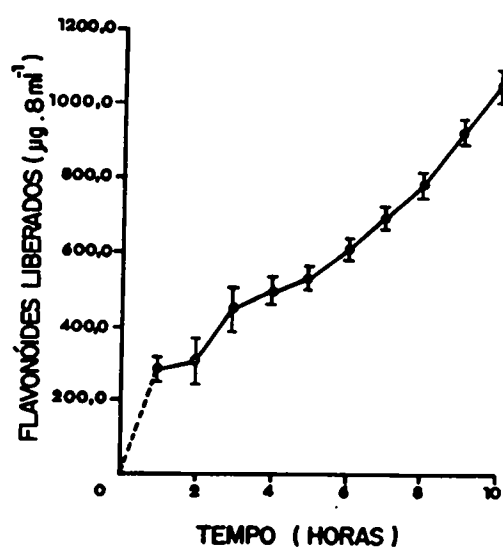


FIGURA 48 - Perfil da biodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila.

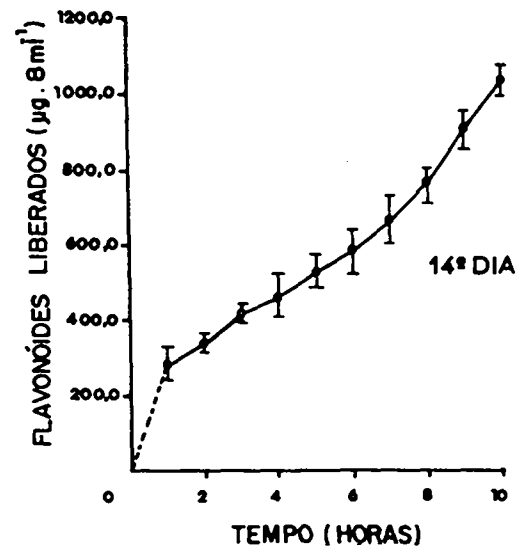
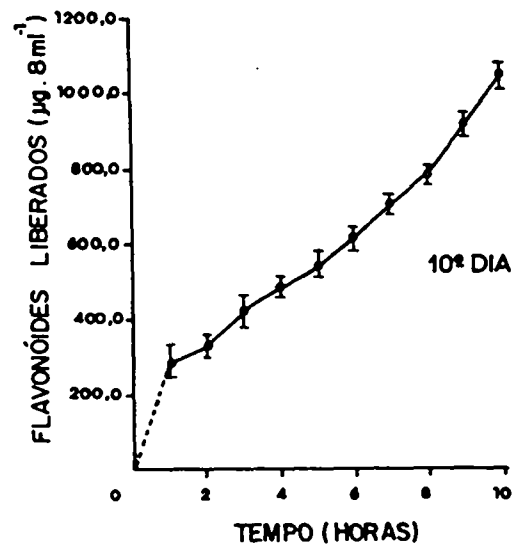
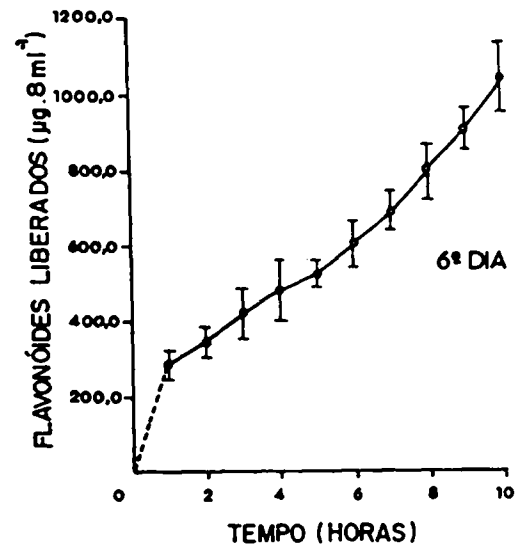
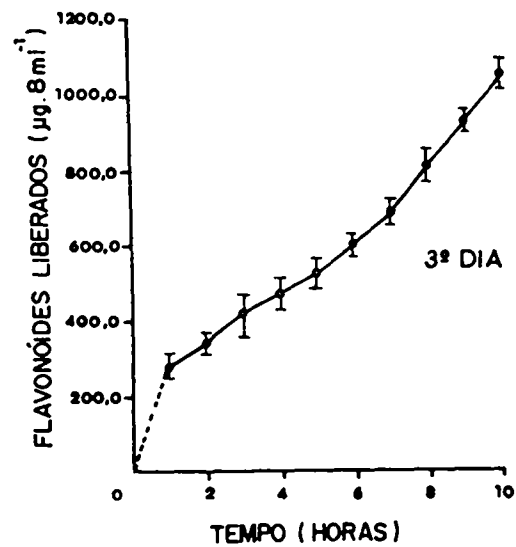


FIGURA 49 - Perfis de biodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 25°C.

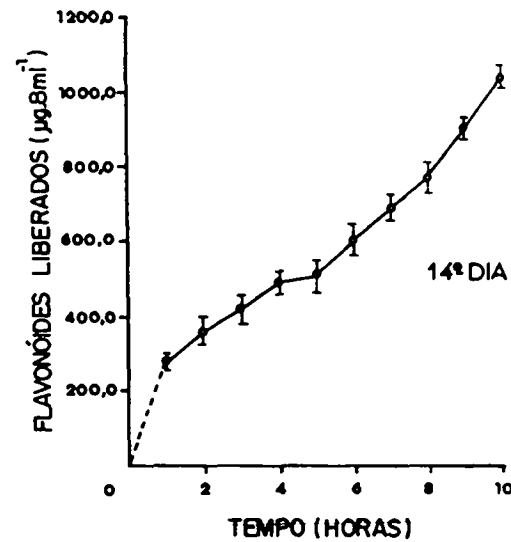
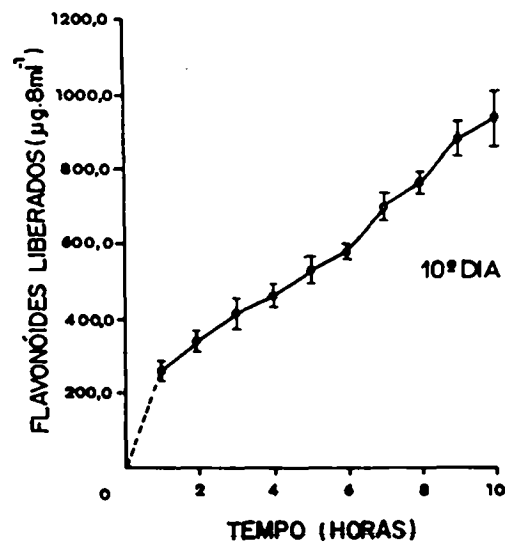
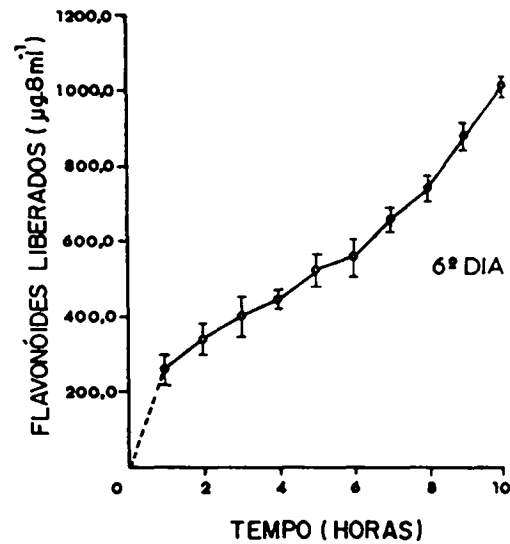
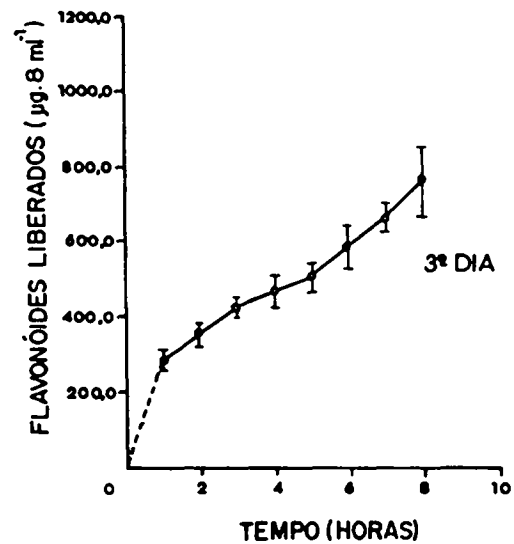


FIGURA 50 - Perfis de biodisponibilidade de flavonóides totais da pomada monoestearato de glicerila em função do tempo de armazenamento a 35°C.

Este trabalho, que apresenta suas limitações intrínsecas ligadas principalmente a restrições pertinentes a abrangência do tema, procura através de seus resultados, servir de base a novas pesquisas complementares.

5. CONCLUSOES

A obtenção de pomada contendo extrato concentrado de *Achyrocline satureioides* é viável metodologicamente, tanto sob o ponto de vista de ações de transformação, quanto de controle da qualidade total.

A cromatografia, tendo como suporte papel de filtro, permitiu caracterizar a droga vegetal, os extratos hidroalcoólicose diluído e concentrado, as pomadas e os eluatos do teste de biodisponibilidade.

O método de cromatografia em papel associada a espectrofotometria no ultravioleta mostrou-se viável e reprodutível na quantificação de quercetina presente nos extratos hidroalcoólicos diluído e concentrado, nas formas farmacêuticas e na avaliação da biodisponibilidade.

A determinação de flavonóides totais demonstrou ser técnica adequada para a avaliação quantitativa, tanto na droga vegetal, como nos extratos hidroalcoólicos diluído e concentrado e no teste da biodisponibilidade.

A distribuição homogênea do extrato concentrado nas bases só foi possível através de seu tratamento prévio com polissorbato 80 .

A incorporação do extrato concentrado às bases monoestearato de glicerila e hidrofílica causou alterações nas características destas bases, especialmente no comportamento reológico.

O equipamento desenvolvido para a avaliação da biodisponibilidade das pomadas apresentou resultados reprodutíveis, além de praticidade de manuseio.

Não houve diferença significativa ($\alpha \leq 0,05$) entre os perfis de liberação de quercetina das pomadas hidrofílica e monoestearato de glicerila.

A pomada de monoestearato de glicerila armazenada a diversas temperaturas sofreu alterações nas suas características reológicas sem comprometimento do perfil cromatográfico, da concentração de quercetina e da biodisponibilidade.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ADAMI, M., COLOMBO, G., GALLO, M.T. Variabilité des propriétés physiques entre des lots de glycérides semi-synthétiques solides. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.32, n.1, p.13-19, 1986.
2. AKERELE, O. The WHO Traditional Medicine Program: Policy and Implementation. *International Traditional Medicine Newsletter*, v.1, n.1, p.1-3, 1985.
3. AKISUE, M.K. Análise do óleo essencial de *Achyrocline satureioides* DC. Compositae. *Revista de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo*, v.9, n.1, p.107-114, 1971.
4. ALMEIDA CUNHA, B.C., FILGUEIRAS, H.A.C. Estudo de parâmetros reológicos aplicáveis ao controle de produtos emulsionados. *Anais da Farmácia e Química de São Paulo*, v.17, n.1, p.53-62, 1977.
5. AMBROSE, A.M., ROBBINS, D.J., DeEDS, F. Chronic and Acute Toxicities of some Flavonoids. *Journal of the American Pharmaceutical Association. Sci. Ed.*, v.41, p.119, 1952.
6. ARAUJO, A.M. *Medicina rústica*. 3.ed. São Paulo: Nacional, p.151, 1979.
7. ASCHE, B., ESSIG, D., SCHMIDT, P.C.(Hrsg.). *Technologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984.
8. BALSAM, M.S., GERSHON, S.D., RIEGER, M.M., SAGARIN, E., STRIANSE, S.J. Preservation of Cosmetics. In: BALSAM, M.S., SAGARIN, E.(Eds.). *Cosmetics Science and Technology*. New York: Interscience, 1974. v.3, cap.40, p.391-470.
9. BARRY, B.W., GRACE, A.J. Grade Variation in the Rheology of White Soft Paraffin B.P. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.22, p.1475-1565, 1970.
10. BARRY, B.W., GRACE, A.J. Rheological and Sensory Evaluation of Work Softening and Recovery of Pharmaceutical white Soft Parafin. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.60, n.8, p.1198-1204, 1971.

11. BASSANI, V.L. *Valorisation de Formes Galeniques Vegetales. Desalcooolisation et Concentration des Solutions Extractives sur Membrane D'Osiose Inverse.* Montpellier: Unité de Formation et de Recherche des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, 1990. 261 f. These. (Doutorado em Farmácia).
12. BAUER, L., SILVA, G.A. de A.B. e, SIQUEIRA, N.C.S. de, BACHA, C.T.M., SANT'ANA, B.M.S. Contribuição à análise dos óleos essenciais de *Eupatorium ligulifolium* HA. e *Achyrocline satureioides* DC. do Rio Grande do Sul. *Revista Brasileira de Farmácia*, v.60, n.7/9, p.97-100, 1979.
13. BAUER, K.H., FROEMMING, K.H., FUEHRER, C. *Pharmazeutische Technologie.* Stuttgart: Georg Thieme, 1986.
14. BERNATH, J. Oral Lectures of Medicinal Plant. Section Presented on the XXIII International Horticultural Congress. *Newsletter of Medicinal and Aromatic Plants*, v.2, p.27-29, 1990.
15. BERNHARD, H. Neuere Aspekte der Arzneipflanzenextraktion. *Schweizerische Apotheker Zeitung*, v.118, n.22, p.555-557, 1980.
16. BILLUPS, N.F., PATEL, N.K. Experiments in Physical Pharmacy. "In Vitro" Release of Medicament from Ointment Bases. *American Journal of Pharmaceutical Education*, v.34, p.190-196, 1979.
17. BJELDANES, L.F., CHANG, G.W. Mutagenic Activity of Quercetin and related Compounds. *Science*, v.197, p.577-578, 1977.
18. BLUMENTHAL-BARBY, K., BALCK, K. Die Stellung der Arzneipflanzen im Gesundheitsverhalten der Bevoelkerung der DDR. *Pharmazie*, v.41, n.8, p.594-595, 1986.
19. BOEHM, K. von. Die Flavonoide. *Arzneimittel-Forschung*, v.9, n.9, p.540-544, 1959.
20. BOMBOR, R. HORSCH, W. Eigenschaften und Bewertung von Oleogelen. *Pharmazie*, v.32, n.11, p.706-708, 1977.
21. BONATI, A. Medicinal Plants and Industry. *Journal of Ethnopharmacology*, v.2, p.167-171, 1980.
22. BONOMI, E., NEGRETTI, F. Ricerche sul contenuto microbico di materie prime impiegate nelle preparazioni farmaceutiche. *Annali dell'Instituto Superiore di Sanità*, n.13, p.805-832, 1977.

23. BOYLAN, J.C. Rheological Estimation of the Spreading Characteristics of Pharmaceutical Semisolids. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.56, n.9, p.1164-1169, 1967.
24. BRANDAU, R., LIPPOLD, B.H. (Hrsg.). *Dermal and Transdermal Absorption*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1982. p.113-115.
25. BRITISH HERBAL Pharmacopoeia. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1983.
26. BRITISH Pharmacopoeia. 13.ed. London: Her Majesty's Stationery Office, 1985.
27. BROUSSALIS, A.M., FERRARO, G.E, GURNI, A., COUSSIO, J.D. Phenolic Constituents of four *Achyrocline* Species. *Biochemical Systematic and Ecology*, v.16, n.4, p.401-402, 1988.
28. BROWN, J.P., DIETRICH, P.S. Mutagenicity of Plant Flavonols in the *Salmonella* Mammalian Microsome Test. Activation of Flavonol Glycosides by Mixed Glycosidases from Rat Cecal Bacteria and other Sources. *Mutation Research*, v.66, p.223-240, 1979.
29. BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBAENDE (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel - Codex. 1986*. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986a. v.1: Codex - Probe 4, p.9.
30. BUNDESVEREINIGUNG DEUTSCHER APOTHEKERVERBAENDE (Hrsg.). *Deutscher Arzneimittel - Codex. 1986*. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986b. v.2: Holunderblueten, p.1-3, Erg.81.
31. BUTLER, N., McCARTHY, T.J. Parameters of a Dialysis Method for Studying the Release of Preservatives. *Cosmetics & Toiletries*, v.95, p.47-49, 1980.
32. CARDOSO, M.L.C. *Limonium brasiliense (Boiss.) Kuntze, Flumbaginaceae (baicuru): Desenvolvimento galênico de extratos*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1990. 102 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
33. CARLINI, E.L.A. *Estudo de ação antiúlcera gástrica das plantas brasileiras (Maytenus ilicifolia "espinheira-santa" e outras)*. Brasília: CEME, 1988.
34. CARRUBA, A. The Economic State of Officinal Plants in Italy. Section Presented on the XXIII International Horticultural Congress. *Newsletter of Medicinal and Aromatic Plants*, v.2, p.63-65, 1990.

35. CARSTENSEN, J.T. Stability of Solids and Disperse Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v.10, n.8/9, p.1277-1296, 1984.
36. CARVALHO, A.R. *A cura pelas plantas*. 3.ed. São Paulo: Masucci, 1972, p.254.
37. CARVALHO, L.S. Formulação farmacêutica e biodisponibilidade. III. Influência dos "excipientes". *Revista Portuguesa de Farmácia*, v.26, p.30-63, 1976.
38. CARVER, J.H., CARRANO, A.V., MaC GREGOR, J.T. Genetic Effects of the Flavonols Quercetin, Kaempferol and Galangin on Chinese Hamster Ovary Cells "In Vitro." *Mutation Research*, v.113, p.45-60, 1983.
39. CASTRILLO, J.L., CARRASCO, L. Action of 3-methylquercetin on Poliovirus RNA Replication. *Journal of Virology*, v.61, n.10, p.3319-3321, 1987.
40. CASTRILLO, J.L., VAN DER BERGHE, D.A., CARRASCO, L. 3-Methylquercetin is a Potent and Selective Inhibitor of Poliovirus RNA Synthesis. *Virology*, v.152, p.219-227, 1986.
41. CEA, G.F.A., ETCHEBERRY, K.F.C., DULOUT, F.N. Induction of Micronuclei in Mouse Bone-marrow Cells by the Flavonoid 5, 3', 4'-trihydroxy-3, 6, 7, 8-tetramethoxyflavone (THTMF). *Mutation Research*, v.119, p.339-342, 1983.
42. CEME. *Relatório de Atividades - 1985*. Brasília, 1985.
43. CHEMTOB, C., PUISIEUX, F. Analyse des pommades, des huiles et des cires. XXI. Etude des propriétés rhéologiques de la lanoline et de deux de ses dérivés. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v.51, n.10, p.289-296, 1976.
44. CHOWHAN, Z.T., PRITCHARD, R. Release of Corticoids from Oleaginous Ointment Bases Containing Drug in Suspension. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.64, n.5, p.754-759, 1975.
45. DAVIS, S.S. Viscoelastic Properties of Pharmaceutical Semi-solids. I: Ointment Bases. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.58, p.412-418, 1969.
46. DAVIS, S.S. Viscoelastic Properties of Pharmaceutical Semi-solid. III: Nondestructive Oscillatory Testing. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.60, p.1351-1356, 1971.
47. DAVIS, S.S. Is Pharmaceutical Rheology dead? *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v.49, n.5/6, p.161-168, 1974.

48. DAVIS, S.S. Rheologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen. In: ASCHE, B., ESSIG, D., SCHMIDT, P.C. (Hrsg.). *Technologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984. cap.9, p.160-175.
49. DAVIS, S.S. Physicochemical Criteria for Semi-solid Dosage Forms. In: GRIMM, W. (Ed.). *Stability Testing of Drug Products*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1987. cap.2, p.40-55.
50. DEF. Dicionário de Especialidades Farmacêuticas 90/91. Rio de Janeiro: EPUME, 1990.
51. DEMPSKI, R.E., PORTNOFF, J.B., WASE, A.W. "In Vitro" Release and "In Vivo" Penetration Studies of a Topical Steroid from Nonaqueous Vehicles. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.58, n.5, p.579-582, 1969.
52. DOMINGOS, I., RIBEIRO DO VALLE, R.M., COSTA, L.H., SIMOES, C.M.O., NICOLAU, M., POLI, A. Efeitos dos extratos brutos (EB) de *Achyrocline satureioides* (marcela) sobre a resposta contrátil da traquéia isolada de cobaia a vários agonistas. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 11 João Pessoa, 12-14 set. 1990. *Livro de resumos...* João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1990. p.4.38.
53. D'AVILA, M.C. *Da flora medicinal do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Faculdade de Medicina e Farmácia de Porto Alegre, 1910. p.139-140. These.
54. ELLIGER, C.A., HENIKA, P.R., MaC GREGOR, J.T. Mutagenicity of Flavones, Chromones and Acetophenones in *Salmonella typhimurium*. New Structure-activity Relationships. *Mutation Research*, v.135, p.77-86, 1984.
55. ERÖS, I. Theoretische und praktische Fragen der struktur-rheologischen Forschung. *Pharmazie*, v.32, n.11, p.709-713, 1977.
56. ERÖS, I., MAYER, A., NAGY, G. Ueber Zusammenhaenge zwischen Zusammensetzung, Konsistenz und Wirkstoffabgabe aus Salbengrundlagen, die mikrokristalline Kohlenwasserstoffe enthalten. I. Untersuchung der Konsistenz und ihrer Stabilitaet. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.24, n.3, p.221-230, 1978a.
57. ERÖS, I., MAYER, A., NAGY, G. Ueber Zusammenhaenge zwischen Zusammensetzung, Konsistenz und Wirkstoffabgabe aus Salbengrundlagen, die mikrokristalline Kohlenwasserstoffe enthalten. II. Der Einfluss von Emulgatoren und Wirkstoffen auf die Konsistenz. *Acta Pharmaceutica Technologica*,

v.24, n.3, p.231-242, 1978b.

58. ERÖS, I., UGRI-HUNYADVARI, E. Theoretische und praktische Fragen der strukturrheologischen Forschung von Salben. 2. Mitteilung: Wirkung oberflächenaaktiver Komponenten auf die rheologischen Eigenschaften. *Pharmazie*, v.32, n.11, p.713-716, 1977a.
59. ERÖS, I., UGRI-HUNYADVARI, E. Theoretische und praktische Fragen der strukturrheologischen Forschung von Salben. 3. Mitteilung: Wirkung des emulgierten Wassers auf die rheologischen Eigenschaften der Salben. *Pharmazie*, v.32, n.11, p.716-719, 1977b.
60. ERÖS, I., UGRI-HUNYADVARI, E. Investigation of the Rheological Characteristics of Ointment Gels Containing Emulsifiers and Emulsion-type Ointments. *Cosmetics & Toiletries*, v.94, p.67-79, 1979.
61. FARMACOPEIA Brasileira. 3.ed. São Paulo: Andrei, 1977.
62. FARMACOPEIA Brasileira. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. pt.1.
63. FARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. 2.ed. São Paulo: Siqueira, 1959.
64. FARNSWORTH, N.R., AKERELE, O., BINGEL, A.S., SOEJARTO, D.D., GUO, Z. Medicinal Plants in Therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, v.63, n.6, p.965-981, 1985.
65. FERRARO, G.E., NORBEDO, C., COUSSIO, J.D. Polyphenols from *Achyrocline satureioides*. *Phytochemistry*, v.20, n.8, p.2053-2054, 1981.
66. FRANCO, S.L. *Maytenus ilicifolia Martius ex. Reiss.* - *Celastraceae. Proposta tecnológica de macerados.* Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1990. 153 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
67. FRIEND, D.R., CATZ, P., HELLER, J., ORAGANI, M. Transdermal Delivery of Levonorgestrel. IV: Evaluation of Membranes. *American Pharmaceutical Association*, v.78, n.6, p.477-480, 1989.
68. FUELLER, W., MUENZEL, K. Untersuchungen ueber das rheologische Verhalten von Vaseline. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, v.35, p.656-678, 1960.
69. GNESS, K.D. Neue Strategie zur Auswertung von Stresstest-ergebnissen. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.35, n.2, p.67-74, 1989.

70. GONZALES, M., LOMBARDO, A. Historiando las marcelas. *Revista Farmaceutica*, v.85, n.10, p.485-488, 1943.
71. GOSMANN, G. *Saponinas de Ilex paraguariensis St. Hil. (erva-mate)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia de UFRGS, 1989. 108 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
72. GRIMM, W., SCHEPKY, G. *Stabilitaetspruefung in der Pharmazie*. Aulendorf: Cantor, 1980.
73. GSTIRNER, F. (Hrsg.). *Einfuehrung in die Verfahrenstechnik der Arzneiformung*. 5.Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1973. p.75-88.
74. GSTIRNER, F., BINDE, E. *Zur Bestimmung der Oelzahl von Vaselinen*. *Scientia Pharmaceutica*, v.34, p.4-10, 1966.
75. GUGLER, R., LESCHIK, M., DENGLER, H.J. Disposition of Quercetin in Man after Single Oral and Intravenous Doses. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v.9, p.229-34, 1975.
76. GUTKIND, G.O., MARTINO, V., GRANA, N., COUSSIO, J.D., TORRES, R.A. de. Screening of South American Plants for Biological Activities. 1. Antibacterial and Antifungal Activity. *Fitoterapia*, v.52, n.5, p.213-218, 1981.
77. HABIB, F.S., ATTIA, M.A., EL-SHANAWANY, M. "In Vitro" Study of Physostigmine Salicylate and Pilocarpine Hydrochloride Release from Diferent Gel Formulations. *Pharmazie*, v.41, n.2, p.124-125, 1986.
78. HADGRAFT, J. Percutaneous Absorption: Possibilities and Problems. *International Journal of Pharmaceutics*, n.16, p.255-270, 1983.
79. HAENSEL, R., OHLENDORF, D. Ein neues im Ring β unsubstituiertes Flavon aus *Achyrocline satureioides*. *Archiv der Pharmazie*, v.304, n.12, p.893-896, 1971.
80. HALBACH, G. Grenzen der Analytik pflanzlicher Arzneibereitung. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.123, n.14, p.668-671, 1983.
81. HANKE, G. (Hrsg.). *Qualitaet pflanzlicher Arzneimittel*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984.
82. HARDIGREE, A.A., EPLER, J.L. Comparative Mutagenesis of Plant Flavonoids in Microbial Systems. *Mutation Research*, v.58, p.231-239, 1978.

83. HARNISCHFEGER, G. (Hrsg.). *Qualitätskontrolle von Phytopharmaka*. Stuttgart: Georg Thieme, 1985.
84. HARTKE, K., MUTSCHLER, E. *Deutsches Arzneibuch - 9. Ausgabe 1986 Kommentar*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1987. p.305-306.
85. HIRSCHMANN, G.S. The Constituents of *Achyrocline satureioides* DC. *Revista Latinoamericana de Química*, v.15, n.3, p.134-135, 1984.
86. HIRONO, I. Carcinogenicity of Plant Constituents: Pyrrolizidine Alkaloids, Flavonoids, Bracken Fern. *Progress in Clinical and Biological Research*, v.206, p.45-53, 1986.
87. HOEHNE, P.C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e medicinais*. São Paulo: Graphicars, 1939. p.306.
88. HORSCH, W. Transportmechanismen und Einflussfaktoren in den Systemen Salbe Haut und Arzneistoff Salben Grundlage. *Pharmazie*, v.39, n.9, p.598-605, 1984.
89. HUETTENRAUCH, R., SUESS, W., SCHMEISS, U. Beeinflussung der Eigenschaften von Kohlenwassertoff-Salben. 1. Mitteilung: Ueber den Einfluss der Zusammensetzung auf die Konsistenz und auf die Blutung. *Pharmazie*, v.27, p.169-175, 1972.
90. IDSON, B. Percutaneous Absorption. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.64, n.6, p.901-924, 1975.
91. JIMBO, Y., ISHIHARA, M., OSAMURA, H., TAKANO, M., OHARA, M. Influence of Vehicle on Penetration through Human Epidermis of Benzyl Alcohol, Isoeugenol and Methyl Isoeugenol. *The Journal of Dermatology*, v.10, p.241-250, 1983.
92. JOERS, H.J., BRANDAU, R. Dermatika. In: SUCKER, H, FUCHS, P., SPEISER, P. (Hrsg.). *Pharmazeutische Technologie*. Stuttgart: Georg Thieme, 1978. Cap.5, p.629-686.
93. KAIHO, F., NASU, T., KATO, Y. "In Vitro" Release of Prednisolone from Oil-in-Water Type Ointment. The Effect of Long-Chain Alcohols on Drug Release. *Chemical and Pharmaceutica Bulletin*, v.31, n.4, p.1395-1399, 1983.
94. KALOGA, M., HAENSEL, R., CYBULSKI, E.-M. Isolierung eines Kawapyrons aus *Achyrocline satureioides*. *Planta Medica*, v.48, p.103-104, 1983.
95. KAMETANI, F., KITAGAWA, S., GENCAY, H.A. Reverse Permeation of Salicylate Ion through Cellulose Membrane. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.72, n.4, p.425-428, 1983.

96. KEDVESSY, G. Die Arzneiwirkung beeinflussende Faktoren der Salbengele. *Pharmazie*, v.39, n.9, p.632-634, 1984.
97. KOENIG, B., DUSTMANN, J.H. The Caffeoilyes as a new Family of Natural Antiviral Compounds. *Naturwissenschaften*, v.72, p.659-661, 1985.
98. KOLLING, I.G., SCHAPOVAL, E.G. Controle de qualidade microbiológica de produtos cosméticos. *Aerosol & Cosméticos*, n.34, p.4-10, 1984.
99. KOIZUMI, T., HIGUCHI, W.I. Analysis of Date on Drug Release from Emulsions. II: Pyridine Release from Water-in-Oil Emulsions as a Function of pH. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.57, n.1, p.87-92, 1968.
100. KOTWAS, J. VON, ZESCH, A. Einige biopharmazeutische Aspekte bei Dermatika. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.119, n.13, p.481-483, 1979.
101. KREUTER, J. Zur Interpretation und Auswertung einiger rheologischen Systeme. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.119, n.6, p.197-9, 1979.
102. KULICKE, W, -M. (Hrsg.). *Fliessverhalten von Stoffen und Stoffgemischen*. Basel: Huethig & Wepf, 1986.
103. LAMATY, G., MENUT, C., BESSIERE, J. M., SCHENKEL, E.P., SANTOS, M.A., BASSANI, V.L. The Chemical Composition of some *Achyrocline satureioides* and *Achyrocline alata* Oils from Brasil. *Journal of Essential Oil Research*, n.3, p.317-321, 1991.
104. LAMBERT, W.J., HIGUCHI, W.I., KNUTSON, K. KRILL, S.L. Effects of Long-Term Hydration Leading to the Development of Polar Channels in Hairless Mouse Stratum Corneum. *American Pharmaceutical Association*, v.78, n.11, p.925-928, 1989.
105. LANGELOH, A., SCHENKEL, E.P. Atividade antiespasmódica em extrato hidroalcoólico de marcela. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMACOLOGIA E TERAPEUCA EXPERIMENTAL, 1, Pirassununga, 3-6 jul. 1982. *Resumos...Pirassununga: CIZIP, 1982a. p.135.*
106. LANGELOH, A., SCHENKEL, E.P. Efeito antagonista do extrato de marcela (*Achyrocline satureioides*) sobre as contrações produzidas por acetilcolina, histamina e cloreto de bário na musculatura intestinal. In: ENCONTRO ANUAL DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS, 11, Rio Grande, 4-6 nov. 1982. *Resumos... Rio Grande: FURG, 1982b. p.40.*

107. LANGELOH, A., SCHENKEL, E.P. Atividade antiespasmódica do extrato hidroalcoólico de marcela (*Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae) sobre a musculatura lisa genital dos ratos. *Caderno de Farmácia*, v.1, n.1, p.38-44, 1985.
108. LASHMER, V.T., HADGRAFT, J. Effects of Glycerol and Propylene Glycol on excised Mouse Skin and Skin Permeability. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.38, p.67-P, 1986.
109. LIMA, C.S.A., BIEBER, L.W., MELLO, J.F. de. Constituintes antimicrobianos de *Achyrocline satureioides* DC. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 11, João Pessoa, 12-14 set. 1990. *Resumos...* João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba, 1990. p.2.05.
110. LINTNER, C.J. Stability of Pharmaceutical Products. In: GENARO, A.R. (Ed.). *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 18.ed. Easton: Mack, 1990. cap.82, p.1478-1485.
111. LIPPOLD, B.C. Biopharmazeutische Gesichtspunkte zur Entwicklung und Anwendung von Salben. *Pharmazeutische Industrie*, v.38, n.2, p.201-207, 1976.
112. LIPPOLD, B.C. "In Vitro" Methods for Simulating the Absorption of Drugs. In: BRANDAU, R., LIPPOLD, B.H. (Hrsg.). *Dermal and Transdermal Absorption*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1982. Cap.6, p.101-113.
113. LIPPOLD, B.C. (Hrsg.). *Biopharmazie*. 2 Aufl. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984. p.99-131.
114. LIPPOLD, B.C., KURKA, P. Einfluss von Herstellung und Lagerung auf die Arzneistofffreisetzung aus Loesungssalben. *Pharmazie*, v.38, n.5, p.347-348, 1983.
115. LIPPOLD, B.C., REIMANN, H. Wirkungsbeeinflussung bei Loesungssalben durch Vehikel am Beispiel von Methylnicotinat. Teil I: Relative thermodynamische Aktivitaet des Arzneistoffes in verschiedenen Vehikeln und Freisetzungverhalten. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.35, n.3, p.128-135, 1989.
116. LIPPOLD, B.C., TEUBNER, A. Einfluss verschiedener Salbengrundlagen auf die Wirkung von Nicotinsaeurebenzylester in Loesungssalben. *Pharmazeutische Industrie*, v.43, n.11, p.1123-1133, 1981.
117. LOTH, H., HAILER, M. Parameter-Bestimmung bei der Arzneistoffliberation aus Salben in Membranmodellen. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.29, n.2, p.97-104, 1983.

118. LOTH, H., HAILER, M. Einfluss einiger experimenteller Parameter auf die Penetration von Arzneistoffen in exzidierte, menschliche Haut. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.29, n.3, p.181-186, 1983.
119. LOTH, H., HOLLA-BENNINGER, A. Untersuchungen der Arzneistoffliberation aus Salben. 1.Mitt.: Entwicklung eines in-vitro-Liberationsmodells. *Pharmazeutische Industrie*, v.40, n.3, p.256-261, 1978.
120. LOTH, H., HOLLA-BENNINGER, HAILER, M. Untersuchungen der Arzneistoffliberation aus Salben. 2.Mitt.: Einflüsse der Eigenschaften wasserfreier Salbengrundlagen auf die Wirkstofffreisetzung aus Suspensionssalben. *Pharmazeutische Industrie*, v.41, n.8, p.789-796, 1979.
121. MABRY, T.J., MARKHAM, K.R., THOMAS, M.B. Reagents and Procedures for the Ultraviolet Spectral Analysis of Flavonoids. In: ---. *The Systematic Identification of Flavonoids*. Berlin: Springer, 1970. cap.4, p.35-40.
122. MacGREGOR, J.T. Genetic Toxicology of Dietary Flavonoids. *Progress in Clinical and Biological Research*, v.206, p.33-43, 1986.
123. MacGREGOR, J.T., JURD, L. Mutagenicity of Plant Flavonoids: Structural Requirements for Mutagenic Activity in *Salmonella typhimurium*. *Mutation Research*, v.54, p.297-309, 1978.
124. MacDONALD, I.A., MADER, J.A., BUSSARD, R.G. The Role of Rutin and Quercitrin in Stimulating Flavonol Glycosidase Activity by Cultured Cell-free Microbial Preparations of Human Feces and Saliva. *Mutation Research*, v.122, p.95-102, 1983.
125. MADER, J.A., Mac DONALD, I.A. Effect of Bile Acids on Formation of the Mutagen, Quercetin from two Flavonol Glycoside Precursors by Human Gut Bacterial Preparations. *Mutation Research*, v.155, p.99-104, 1985.
126. MANFRED, L. *7000 recetas botanicas*. Buenos Aires: s.ed., 1958. p.384.
127. MARTINS, D.G., SANTOS, E.R., MACIEL, G.M., DIV, M.B.S., NASCIMENTO, S.C. Estudos toxicológicos, microbiológicos e "in vitro" da *Achyrocline satureioides*. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10, São Paulo, 5-7 set. 1988. *Resumos...* São Paulo: Departamento de Psicologia e Departamento de Farmacologia da Escola Paulista de Medicina, 1988. Painei 7/9, res.29.

128. MAYER, A., KEDVESSY, G. In Vitro Untersuchungen ueber die Arzneiabgabe aus Salben. *Pharmazeutische Industrie*, v.31, n.5, p.323-328, 1969.
129. MAYER, A., NAGY, G., EROS, I. Ueber Zusammenhaenge zwischen Zusammensetzung, Konsistenz und Wirkstoffabgabe aus Salbengrundalgen, die mikrokristalline Kohlenwasserstoffe enthalten. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.24, n.3, p.243-250, 1978.
130. MAZAKI, M., ISHII, T., UYETA, M. Mutagenicity of Hydrolysates of Citrus Fruit Juices. *Mutation Research*, v.101, p.283-291, 1982.
131. MELLO, J.C.P. de. *Desenvolvimento galênico de macerados de Baccharis trimera (Less.) DC. - Compositae - (carqueja)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1989. 136 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
132. MELTZ, M.L., MacGREGOR, J.T. Activity of the Plant Flavonol Quercetin in the Mouse Lymphoma L 5178Y TK +/- Mutation, DNA Single-strand Break, and Balb/c 3T3 Chemical Transformation Assays. *Mutation Research*, v.88, p.317-324, 1981.
133. MENSSSEN, H.G. Standardisierung und Zubereitungsformen von Phytopharmaka. *Pharmazeutische Zeitung*, v.124, n.6, p.233-236, 1979.
134. MENTZ, L.A., SCHENKEL, E.P. Plantas medicinais: A coerência e a confiabilidade das indicações terapêuticas. *Caderno de Farmácia*, v.5, n.1/2, p.93-119, 1989.
135. MESQUITA, A.A.L., CORREA, D. de B., PADUA, A.P. de, GUEDES, M.L.O., GOTTLIEB, O.R. Flavonoids from four Compositae Species. *Phytochemistry*, v.25, n.5, p.1255-1256, 1986.
136. MEWIS, J. Thixotropy - A General Review. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, v.6, p.1-20, 1979.
137. MOTA, T.M.B. *Substâncias antibióticas em vegetais superiores*. Santa Maria: Faculdade de Farmácia, 1963. 60 f. Dissertação. (Livre Docência).
138. MUCSI, I. Combined Antiviral Effects of Flavonoids and 5-ethyl-2-deoxyridine on the Multiplication of Herpes Viruses. *Acta Virulogica*, v.28, p.395-400, 1984.
139. MUENZEL, K., BUECHI, J., SCHULTZ, O.E. (Hrsg.). *Galenisches Praktikum*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1959.
140. MUELLER-GOYMANN, C.C. The Influence of the Microstructure

- on Consistency and Physical Stability of an o/w Cream. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.32, n.2, p.60-66, 1987.
141. NAGELL, A. Qualitaetskontrolle der Ausgangsstoffe. In: HARNISCHFEGER, G.(Hrsg.). *Qualitaetskontrolle von Phytopharmaka*. Stuttgart: Georg Thieme, 1985. cap.3, p.61-70.
 142. NEUBERT, R., WOHLRAB, W. "In Vitro" Methods for the Biopharmaceutical Evaluation of Topical Formulations. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.36, n.4, p.197-206, 1990.
 143. NORO, S.I., KOMATSU, Y., UESUGI, T. Studies on Pharmaceutical Drugs Design for Suppositories. II. Rheological Properties of Emulsion-Type Suppository Bases. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, v.30, n.8, p.2906-2911, 1982.
 144. NUERNBERG, E., KOHL, P. Entwicklung und Eigenschaften ambiphiler Cremes unter Einbeziehung von Salicylsaeure, Neomycinsulfat und Steroiden. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.120, n.35, p.1649-1657, 1980.
 145. OGAWA, S., HIRAYAMA, T., NOHARA, M., TOKUDA, M., HIRAI, K., FUKUI, S. The Effect of Quercetin on the Mutagenicity of 2-acetylaminofluorene and Benzo[a]pyrene in *Salmonella typhimurium* Strains. *Mutation Research*, v.142, p.103-107, 1985.
 146. ORBE, A., SUNDELOEF, L.O. A New "In Vitro" Model for Quantitative Study of Cream Permeability. *International Journal of Pharmaceutics*, v.41, p.49-53, 1988.
 147. ORTEGA, G.G., SCHENKEL, E.P., ATHAYDE, M.L., MENTZ, L.A. Brasilianische Phytotherapeutika. Ihre Rolle im Arzneimittelmarkt. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.129, n.35, p.1847-1848, 1989.
 148. OSTRENGA, J., STEINMETZ, C., POULSEN, B. Significance of Vehicle Composition. I: Relationship between Topical Vehicle Composition, Skin Penetrability, and Clinical Efficacy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.60, n.8, p.1175-1183, 1971.
 149. PAMUKEU, A.M., YALEINER, S., HATCHER, J.F., BRYAN, G.T. Quercetin, a Rat Intestinal and Bladder Carcinogen Present in Bracken Fern (*Pteridium aquilinum*). *Cancer Research*, v.40, p.3468-3472, 1980.
 150. PAVETTI, C., BASVALDO, I., ORTIZ, M. Plantas nativas de uso en medicina popular en el Paraguay. (Parte I). In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 7, Belo Horizonte, 1-3 set. 1982. *Resumos...* Belo Horizonte: Univer-

cidade Federal de Minas Gerais, 1982, p.87.

151. PEIGEN, X. Traditional Experience of Chinese Herb Medicine. Its Application in Drug Research and New Drug Searching. In: BEAL, J.L., REINHARD, E. (Eds.). *Natural Products as Medicinal Agents*. Stuttgart: Hippokates, 1981, p.355.
152. PETROVICK, P.R., SONAGLIO, D., MELLO, J.R.P. de, FRANCO, S.L., CARDOSO, M.L.C. Eficácia terapêutica e padronização de fitoterápicos. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10, São Paulo, 5-7 set. 1988. *Resumos...* São Paulo: Departamento de Psicobiologia e Departamento de Farmacologia da Escola Paulista de Medicina, 1988. Painei 6/9, res.18.
153. PHARMACOPEIA dos Estados Unidos do Brasil. São Paulo: Nacional, 1926.
154. PHILLIPS, J. Characterization of Petroleum Waxes by the Behavior of Blends with Oil or Wax. *Technical Association of the Pulp and Paper Industry*, v.2, p.20-32, 1963.
155. PLAIZIER-VERCAMMEN, J. Effect of Additives on the Rheological Properties of Thixogums and their Use as Suspending, Emulsifying, and Gelling Agents. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.35, n.4, p.247-249, 1989.
156. PLAIZIER-VERCAMMEN, J., ASSELBERGHS, G. Rheological Properties of Thixotrol Derivates. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.34, n.2, p.115-120, 1988.
157. PLAIZIER-VERCAMMEN, J., LECLUSE, E., BOUTE, P., de, NEVE, R. E. Rheological Properties of Topical Fluoride Gels. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.35, n.3, p.149-151, 1989.
158. POLI, A., NICOLAU, M., SIMOES, C.M.O., RIBEIRO DO VALLE, R.M., ZANIM, M., SCHMIDT, E.M., BUSS JR., A., SANTOS LOPES, A.C. Efeitos comportamentais do extrato bruto aquoso (chá) de "marcela" (*Achyrocline satureioides*, Lam. DC., Compositae) em animais de laboratório. In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 10, São Paulo, 5-7 set. 1988. *Resumos...* São Paulo: Departamento de Psicobiologia e Departamento de Farmacologia da Escola Paulista de Medicina, 1988. Painei 6/9, res.13.
159. POULSEN, B.J., YOUNG, E., COQUILLA, V., KATZ, M. Effect of Topical Vehicle Composition on the "In Vitro" Release of Fluocinolone Acetonide and its Acetate Ester. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.57, n.6, p.928-933, 1968.
161. PROVOST, C., HERBOTS, H., KINGET, R., Transparent Oil-Water

- Gels: Study of some Physico-Chemical and Biopharmaceutical Characteristics. Part IV: The "In Vitro" Release of Hydrophilic and Lipophilic Drugs. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.35, n.3, p.143-148, 1989.
161. PUHLMANN, J. *Immunologisch aktive Polysaccharide aus den Herbadrogen von Achyrocline satureioides (Lam.) DC. und Arnica montana L. sowie aus Arnica montana L. Zellkulturen.* Muenchen: Fakultae fuer Chemie und Pharmazie, Ludwig-Maximilians-Universitaet (RFA), 1989. Tese de Doutorado.
 162. RADEBAUGH, G.W., SIMONELLI, A.P. Phenomenological Viscoelasticity of a Heterogenous Pharmaceutical Semisolid. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.72, n.4, p.415-421, 1983.
 163. RADEBAUGH, G.W., SIMONELLI, A.P. Temperature-Frequency Equivalence of the Viscoelastic Properties of Anhydrous Lanoline USP. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.72, n.4, p.422-424, 1983.
 164. RAVANEL, P., LECLERCQ, M., MARIOTTE, A.M. La genotoxicité des flavonoides. *Plantes Médicinales et Phytotérapie*, v.21, p.63-78, 1987.
 165. REINER, M. *Rheologie*. 2.Aufl. Leipzig: Fachbuch, 1969.
 166. RENG, A.K. Stabilitaetspruefungen von dispersen Zubereitungen. In: ASCHE, H., ESSIG, D., SCHMIDT, P.C. (Hrsg.). *Technologie von Salben, Suspensionen und Emulsionen*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984. cap.11, p.189-206.
 167. REPPLINGER, G. Bearbeitete Drogen zur Verwendung in Arzneitees und teeae hnlichen Produkten. In: HARNISCHFEGGER, G. (Hrsg.). *Qualitaetskontrolle von Phytopharmaka*. Stuttgart: Georg Thieme, 1985. cap.4, p.80-92.
 168. RICCIARDI, A.I.A., CASSANO, A.E., BURGOS, J.L. Volatile Essential Oils of the Argentina Seacost. *Revista de la Facultad de Ingenieria Quimica. Universidad Nacional del Litoral*, v.36, p.27, 1961.
 169. RICCIARDI, A.I., YUNES, R.A. Volatile Essential Oils of the Argentina Coast. IV. Proof of the Natural Existence of Caryophyllene in the Essential Oil of *Achyrocline satureioides*. *Revista de la Facultad de Ingenieria Quimica. Universidad Nacional del Litoral*, v.40, p.43-49, 1965.
 170. RICHTER, B., KARY, J., VOIGT, R. Zum Einfluss apparatetechnischer Faktoren einschliesslich Membranparameter auf die Arzneistoffliberation aus Salben. *Pharmazie*,

- v.30, n.9, p.591-597, 1975.
171. RICHTER, B., VOIGT, R. Zum Membraneinfluss auf die Liberation aus tensidhaltigen Salben. *Pharmazie*, v.31, n.4, p.262-263, 1976.
 172. RITSCHEL, W.A., AGRAWALA, P. Permeation of Verapamil Hydrochloride through Skin. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.34, n.3, p.156-159, 1988.
 173. ROMBAUT, B., VRIJSEN, R., BOEYE, A. Comparison of Arildone and 3-methylquercetin as Stabilizers of Poliovirus. *Antiviral Research*, p.67-73, 1985. Suppl.
 174. ROSA, Z.M. Compostos Medicinais. *Natureza em Revista*, v.2, p.32-37, 1977.
 175. SAHU, R.K., BASU, R., SHARMA, A. Genetic Toxicological Testing of Plant Flavonoids by the Micronucleus Test. *Mutation Research*, v.89, p.69-74, 1981.
 176. SAMPAIO, S.A.P., CASTRO, R.M., RIVITTI, E.A. Erupções eczematosas. In: _____. *Dermatologia Básica*. São Paulo: Artes Médicas, 1982. Cap.5, p.53-75.
 177. SANTOS, R.I. dos. *C-glicosilflavonas em espécies de Cucurbitaceae conhecidas popularmente como taiuá*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1989. 154 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
 178. SCHALLA, W., SCHAEFER, H. Mechanism of Penetration of Drugs into the Skin. In: BRANDAU, R., LIPPOLD, B.H. (Hrsg.). *Dermal and Transdermal Absorption*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1982. cap.3, p.41-70.
 179. SCHENKEL, E.P., GOSMANN, G., FARIAS, M.R., SANTOS, R.I. dos, VIANNA, R.M.J., SIMOES, C.M.O. O controle de qualidade de insumos vegetais e fitoterápicos na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. *Caderno de Farmácia*, v.2, n.2, p.139-151, 1986.
 180. SCHENKEL, E.P., SIMOES, C.M.O., MENGUE, S.S., MENTZ, L.A., IRGANG E.B., STEHMANN, J.R. O espaço das plantas medicinais e suas formas derivadas na medicina científica. *Caderno de Farmácia*, v.1, n.2, p.65-72, 1985.
 181. SCHILCHER, H. Probleme bei der Beschaffung von Drogen mit Arzneibuchqualitaet. *Pharmazeutische Zeitung*, v.126, n.42, p.2119-2128, 1981.
 182. SCHIMMER, O. Flavonoide: Ihre Rolle als biologisch aktive Naturstoffe. *Deutsche Apotheker Zeitung*, v.126, n.35,

- p.1811-1816, 1986.
183. SCHMIDT, H., SUCKER, H. Der Einfluss chemischer und physikalischer Messdaten auf die Gebrauchseigenschaften von Vaseline. 4. Mitt.: Physikalische Bestimmungen. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, v.74, p.416-420, 1972.
 184. SCHNIEDERS, B., WOLFF, U. Welche Qualitaet ist notwendig und wuensenswert ? *Acta Pharmaceutica Technologica*, p.155-162, 1976. Erg.2.
 185. SCHOEFFLING-KRAUSE, U. *Arzneiformenlehre*. Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1987. p.234-257.
 186. SCHULTE, K.E. Die rheologischen Eigenschaften der Salben. *Il Farmaco*, v.18, n.10, p.509-529, 1963.
 187. SCHULTE, K.E., KASSEM, M.A. Rheologische Studien an Salbengelen. *Acta Pharmaceutica Helvetica*, v.38, n.34, p.86-101, 1963.
 188. SIMOES, C.M.O. *Investigação químico-farmacológica de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. - Compositae - (marcela)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1984. 186 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
 189. SIMOES, C.M.O. Antiinflammatory Action of *Achyrocline satureioides* Extracts applied Topically. *Fitoterapia*, v.59, n.5, p.419-421, 1988.
 190. SIMOES, C.M.O., BAUER, L., PETROVICK, P.R., BASSANI, V.L. Analisis de flavonoides de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. *Revista de la Association Argentina de Farmácia y Bioquímica Industrial*, v.28, n.77, p.2626-2630, 1988a.
 191. SIMOES, C.M.O., MENTZ, L.A., SCHENKEL, E.P., IRGANG, B.E., STEHMANN, J.R. *Plantas da medicina popular do Rio Grande do Sul*. Porto Alegre: Editora da Universidade. UFRGS, 1986b.
 192. SIMOES, C.M.O., RECH, N., LAPA, A.J. Investigação farmacológica do extrato aquoso de folhas/caule de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae (marcela). In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 8, Manaus, 4-6 set. 1984. *Resumos...* Manaus: INTA, 1984a. p.45.
 193. SIMOES, C.M.O., RECH, N., LAPA, A.J. Investigação farmacológica do extrato aquoso de folhas/caule de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC., Compositae (marcela). *Caderno de Farmácia*, v.2, n.1, p.37-54, 1986a.

194. SIMOES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., ANICET, C., NORA, K., LANGELOH, A. Atividade antiespasmódica de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae (marcela) e dois de seus flavonóides sobre jejuno de rato "in vitro". In: SIMPOSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 8, Manaus, 4-6 set. 1984. *Resumos...* Manaus: INTA, 1984b. p.45.
195. SIMOES, C.M.O., SCHENKEL, E.P., BAUER, L., LANGELOH, A. Pharmacological Investigations on *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. Compositae. *Journal of Ethnopharmacology*, v.22, p.281-293, 1988b.
196. SMID-KORBAR, J., KRISTIL, J., SRCIC, S. Einfluss einiger physikochemischer Parameter auf die Wirkstofffreisetzung aus PMMA-Salz-Hydrogelen. *Pharmazie*, v.39, n.9, p.606-607, 1984.
197. SONAGLIO, D. *Padronização de extrato hidroalcoólico das sumidades floridas de Achyrocline satureioides (Lam.) DC. Compositae (marcela)*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1987. 163 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
198. SONAGLIO, D. Influência das condições ambientais e estágios de desenvolvimento na constituição química de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (marcela). In: REUNIAO ANUAL DA SBPC, 41, Fortaleza, 1989. *Resumos...* São Paulo: SBPC, 1989. *Ciência e Cultura*, v.41, n.7, p.487. Supl.
199. SPANG-BRUNNER, B.H., SPEISER, P. Release of a Drug from Homogeneous Ointments Containing the Drug in Solution. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v.28, p.23-28, 1976.
200. SRIVASTAVA, V.K., KISHORE, K. *Introduction to Chromatography. Theory and Practice*. New Delhi: S. Chand, 1985. p.21-22.
201. STICH, H.F., ROSIN, M.P., WU, C.H., POWRIE, W.D. A Comparative Genotoxicity Study of Chlorogenic Acid (3-O-caffeoylquinic acid). *Mutation Research*, v.90, p.201-212, 1981.
202. STELLMACH, B. Herstellung und Standardisierung von Pflanznexttrakten. *Chemische Industrie*, v.32, p.154-170, 1980.
203. STOEWESAND, G.S., ANDERSON, J.L., BOYD, J.N., HRAZDINE, G. Quercetin: A Mutagen, not a Carcinogen in Fisher Rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v.14, p.105-114, 1984.
204. STRICKER, H. (Hrsg.). *Physikalische Pharmazie*. 3.Aufl.

Stuttgart: Wissenschaftliche, 1987.

205. SUGIMURA, T., NAGAO, M., MUTSUSHIMA, T., YAHAGI, T., SEINO, Y., SHIRAI, A., SAWAMURA, M., NATORI, S., YOSHIRIRA, K., FUKUOKA, M., KUROYANAGI, M. Mutagenicity of Flavone Derivates. *Proceedings of the Japan Academy*, v.53, p.194 - 197, 1977.
206. TAKAMURA, A., ISHII, F., NORO, S., KOISHI, M. Physicopharmaceutical Characteristics of an Oil-in-Water Emulsion-Type Ointment Containing Diclofenac Sodium. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.73, n.5, p.676-681, 1984.
207. THE UNITED States Pharmacopeia. USP XXI. 21.rev. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 1985.
208. TIEMESSEN, H.L.G.M., BODDÉ, H.E., VAN KOPPEN, M., BAUER, W.C., JUGINGER, H.E. A Two-Chambered Diffusion Cell with Improved Flow-through Characteristics for Studying the Drug Permeability of Biological Membranes. *Acta Pharmaceutica Technologica*, v.34, n.2, p.99-101, 1988.
209. TOJO, K., CHIANG, C.C., CHIEN, Y.W. Drug Permeation Across the Skin: Effect of Penetrant Hydrophilicity. *American Pharmaceutical Association*, v.76, n.2, p.123-126, 1987.
210. ULMANN, E., THOMA, K. Zur Untersuchung antiseptischer Salben mit Hilfe des Agar-Diffusionstestes. *Arzneimittelforschung*, n.9, p.708, 1959.
211. UYETA, M., TAUE, S., MAZAKI, M. Mutagenicity of Hydrolysates of Tea Infusions. *Mutation Research*, v.88, p.233-240, 1981.
212. VAN DER BERG, M.E. Contribuição à flora medicinal do estado de Mato Grosso. *Ciência e Cultura*, v.33, p.163-170, 1980.
213. VAN HOOF, L., BERGHE, D.A.V., HATFIELD, G.M., VLIETINCK, A.J. Plant Antiviral Agents. V. 3-methoxyflavones as Potent Inhibitors of Viral-induced Block Cell Synthesis. *Planta Medica*, v.50, n.6, p.513-517, 1984.
214. VAN OS, F.H.L. Le dosage de l'huile essentielle dans les drogues vegetales. *Pharmaceutisch Weekblad*, v.100, p.337, 1965.
215. VARGAS, V.M.F., MOTTA, V.E.P., LEITÃO, A.C., HENRIQUES, J.A.P. Mutagenic and Genotoxic Effect of Aqueous Extracts of *Achyrocline satureioides* in Prokaryotic Organisms. *Mutation Research*, v.240, n.1, p.13-18, 1990.

216. VOGEL, G. Pflanzliche Arzneimittel aus medizinischer und pharmakologischer Sicht. In: HANKE, G. (Hrsg.). *Qualitaet pflanzlicher Arzneimittel*. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1984. cap.2, p.19-29.
217. VOIGT, R., BORNSCHEIN, M. *Tratado de tecnologia farmaceutica*. 3.ed. Zaragoza: Acribia, 1982.
218. VON POSER, G.L. *Rauvolfia sellowii Müll. Arg.: Análise química em espécies autêntica e comercializada. Determinação dos efeitos genotóxico mutagênico e recombinogênico dos alcalóides em sistemas eucariótico e procariótico*. Porto Alegre: Curso de Pós-graduação em Farmácia da UFRGS, 1987. 188 f. Dissertação. (Mestrado em Farmácia).
219. WAGNER, H., PROKSCH, A., RIESS-MAURER, I., VOLLMAR, A., ODENTHAL, S., STUPPNER, H., JURCIC, K., LE TURDU, M., HEUER, Y.H. Immunstimulierend wirkende Polisaccharide (Heteroglikane) aus hoeheren Pflanzen. *Arzneimittel-Forschung*, v.34, n.6, p.659-661, 1984.
220. WAGNER, H., PROKSCH, A., RIESS-MAURER, I., VOLLMAR, A., ODENTHAL, S., STUPPNER, H., JURCIC, K., LE TURDU, M., FANG, J.N. Immunostimulating Polysaccharides (heteroglycans) of Higher Plants. *Arzneimittel-Forschung*, v.35, p.1069-1075, 1985.
221. WEISS, A.L., BARTLEY, I.S. Release Rates of Salicylates from Cocoa Butter. I. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.58, n.8, p.980-982, 1969.
222. WICHTL, M. Pflanzliche Ausgangsmaterialien. In: HANKE, G. (Hrsg.). *Qualitaet pflanzlicher Arzneimittel*. Stuttgart: Georg Thieme, 1984. Cap.6, p.65-79.
223. WOHLRAB, W., WOZNIAK, K.-D., TAUBE, K.-M. Ueber die Pharmakokinetik externer Dermatica. *Pharmazie*, v.39, n.9, p.614-615, 1984.
224. WURM, G. (Hrsg.). *Galenische Uebungen*. 11.Aufl. Frankfurt: GOVI, 1987. p.207-247.
225. ZENTNER, M.G., CARDINAL, J.R., KIM, S.W. Progestin Permeation through Polymer Membranes. II: Diffusion Studies on Hydrogel Membranes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.67, n.10, p.1352-1355, 1978.
226. ZHI-CEN, L. *General Control Methods for Vegetable Drugs*. Geneva: WHO, 1980. p. 31-33.
227. ZIEGENMEYER, J. The Influence of the Vehicle on the Absorption and Permeation of Drugs. In: BRANDAU, R., LIPPOLD,

B.C. (Hrsg.). *Dermal and Transdermal Absorption*.
Stuttgart: Wissenschaftliche, 1982. cap.4, p.73-86.

228. ZOPF, L.C., BLAUG, S.M. Medicated Applications. In: GENNA-
RO, A.R. (Ed.). *Remington's Pharmaceutical Sciences*. 18.ed.
Easton: Mack, 1990. cap.85, p.1594-1606.