

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré-formulação da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

MAURO SÉRGIO MARQUES ALVES

BELÉM-PA

2008

Mauro Sérgio Marques Alves

Caracterização farmacognóstica, química, físico-química e estudos preliminares de pré-formulação da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. José Otávio Carréra Silva Júnior

BELÉM-PA

2008

1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1. Plantas Medicinais

Há milhares de anos, a humanidade vem utilizando os recursos da flora no tratamento de diversas patologias. Há relatos, por exemplo, do uso de plantas com finalidades terapêuticas que datam de 3.000 a.C. na obra de *Pen Ts'ao* do chinês Shen Nung (TYLER, 1996; KO, 1999). No ano 78 d.C., o botânico grego Pedânios Dioscórides descreveu cerca de 600 plantas medicinais e este tratado permaneceu como fonte de referência por mais de quatorze séculos (ROBBERS *et al*, 1996; TYLER, 1996). Foi através da observação e da experimentação pelos povos primitivos que as propriedades terapêuticas de determinadas plantas foram sendo descobertas e propagadas de geração em geração, fazendo parte da cultura popular (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

No século XVI, o médico suíço Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim, conhecido como Paracelsus (1493 – 1541), formulou a “Teoria das Assinaturas”, baseada no provérbio latino *similia similibus curantur*, “semelhante cura semelhante”. Com esta teoria acreditava-se que a forma, a cor, o sabor e o odor das plantas estavam relacionados com as suas propriedades terapêuticas, podendo dar indícios de seu uso clínico. Algumas destas plantas passaram a fazer parte das farmacopéias alopáticas e homeopáticas a partir do século XIX, quando se começou a investigar suas bases terapêuticas (ELVIN-LEWIS, 2001).

O isolamento da morfina a partir da *Papaver somniferum* em 1803 pelo farmacêutico Friedrich Wilhelm Adam Sertürmer, marcou o início do processo de extração de princípios ativos de plantas. A partir de então, outras substâncias foram isoladas, como por exemplo, a quinina e a quinidina obtidas da *Cinchona* sp, em 1819, e a atropina da *Atropa belladonna*, em 1831, que passaram a ser utilizadas em substituição aos extratos vegetais (TYLER 1996; SCHULZ, 2001).

A produção de fármacos via síntese química, o crescimento do poder econômico das indústrias farmacêuticas e a ausência de comprovações científicas de eficácia das substâncias de origem vegetal aliada às dificuldades de controle químico, físico-químico, farmacológico e toxicológico dos extratos vegetais até então utilizados, impulsionaram a substituição destes por fármacos sintéticos (RATES, 2001).

Após a década de 1960, observou-se, então, um desinteresse das indústrias farmacêuticas e dos institutos de pesquisa pela busca de novas substâncias de origem vegetal, por se acreditar que já haviam sido isoladas as principais substâncias ativas das drogas vegetais conhecidas, bem como já haviam sido realizadas todas as possíveis modificações químicas de interesse destas substâncias (SCHENKEL *et al*, 2000). Entretanto, a partir dos anos 1980, os avanços técnicos e o desenvolvimento de novos métodos de isolamento de substâncias ativas a partir de fontes naturais, permitiram maior rapidez na identificação de substâncias em amostras complexas, como os extratos vegetais, ressurgindo o interesse pela pesquisa destas substâncias, como protótipos para o desenvolvimento de novos fármacos a partir de plantas medicinais que, segundo Carvalho (2004), são as plantas selecionadas e utilizadas popularmente como remédio no tratamento de doenças, e que é definido pela OMS (1978) como sendo toda e qualquer planta que, aplicada sob determinada forma e por alguma via ao ser humano, é capaz de provocar um efeito farmacológico.

Assim, mesmo com o desenvolvimento de grandes laboratórios farmacêuticos e dos fármacos sintéticos, as plantas medicinais permaneceram como forma alternativa de tratamento em várias partes do mundo. Observou-se, nas últimas décadas, a revalorização do emprego de preparações fitoterápicas, entendidas como sendo todo medicamento obtido e elaborado, empregando-se exclusivamente matérias-primas vegetais com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico, com benefício para o usuário (CARVALHO, 2004). Assim, alguns grupos farmacêuticos passaram a desenvolver esforços voltados para o aprimoramento de medicamentos fitoterápicos e sua produção em escala industrial. O novo avanço dos medicamentos fitoterápicos, longe de se voltar ao passado, caracteriza-se pela busca de produção em escala industrial, diferentemente

das formas artesanais que caracterizaram os estágios iniciais de sua utilização (TUROLLA; NASCIMENTO, 2006).

Atualmente, os preparações oriundas de plantas medicinais são amplamente utilizados em diversos países. Na África, por exemplo, 80% da população dependem do uso dessas preparações, os quais representam alternativas frente ao alto custo dos fármacos sintéticos, (TUROLLA ; NASCIMENTO, 2006).

O consumo de plantas medicinais e de produtos fitoterápicos vem sendo algo surpreendente nos últimos anos, constituindo, assim, um segmento farmacêutico bastante promissor. Este fato é denotado principalmente em consequência da facilidade de acesso, baixo custo de aquisição e sua compatibilidade cultural ou popular, (TYLER, 1996).

As plantas medicinais constituem uma fonte importante de substâncias com atividades biológicas e muitos deles tornam-se protótipos para a síntese de um grande número de compostos bioativos. Pesquisas indicam que o Brasil é líder mundial em diversidade vegetal com cerca de 55 mil espécies catalogadas e 350 mil a 550 mil estimadas. Do total de catalogadas, 10 mil podem ser medicinais, aromáticas ou apresentar outras utilidades (BORGES *et al.*, 2003).

O mercado mundial de fitoterápicos gira em torno de US\$ 40 bilhões, enquanto que no Brasil se calcula que o faturamento esteja em torno de US\$ 1 bilhão (ABIFITO, 2007).

A fitoterapia é uma forma de prática em saúde que vem crescendo nos últimos anos. A Resolução 48/04 da ANVISA (BRASIL, 2004) define fitoterápico como todo medicamento obtido exclusivamente utilizando-se matérias-primas ativas de origem vegetal. Dentre as vantagens dos fitoterápicos, Pedrosa *et al.* (2001) citam os efeitos sinérgicos, menores riscos de efeitos colaterais e baixos custos de pesquisa.

Nos últimos anos, portanto, observa-se um retorno ao uso de ervas e medicamentos delas derivados, tanto nos países em desenvolvimento, como nos desenvolvidos (BELLO *et al.*, 2002), onde muitas pessoas continuam adeptas da medicina natural, seja devido o baixo custo ou por acharem nela o meio ideal para recuperar a saúde e manter o

equilíbrio orgânico. Porém é incorreto afirmar que drogas vegetais não fazem mal ao indivíduo, uma vez que, pois dependendo do princípio ativo e sua concentração o uso do mesmo pode ser letal, (SCHULZ ;TYLER, 2001).

Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que mais da metade dos habitantes do planeta, fazem uso de algum tipo de erva na busca de alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável, e que desse total pelo menos 30% dão-se por indicação médica (ESTRELA, 1995).

Matérias-primas vegetais como plantas ou derivados (extratos, tinturas, óleos essenciais ou produtos secos) têm sido largamente empregadas em farmácias com manipulação e estabelecimentos de produção industrial.

O Ministério da Ciência e Tecnologia em 2001 investiu R\$ 1,8 milhão em pesquisas cujo objetivo foi avaliar a qualidade de medicamentos fitoterápicos (BRASIL, 2002). Entretanto, apesar dos investimentos nesta área, pouco se avançou na questão de padronização da própria planta como matéria-prima para medicamentos.

Embora estudos experimentais sobre química e farmacologia de plantas já tenham sido desenvolvidos em todo o mundo, verifica-se que a maioria consiste basicamente no isolamento e caracterização de constituintes químicos que podem ou não ter atividade (HAMBURGER; HOSTETTMANN, 1991).

As metodologias analíticas para este tipo de produtos deixam muito a desejar, principalmente aqueles que avaliam o perfil de liberação de constituintes ativos (LAPA *et al.*, 1999; SILVA JÚNIOR, 2006).

No Brasil, a legislação para medicamentos fitoterápicos vem sofrendo modificações nos últimos anos. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) vem elaborando normas para a regulamentação destes medicamentos, desde a Portaria n.6 de 1995, que estabeleceu prazos para que as indústrias farmacêuticas apresentassem dados de eficácia e segurança dos medicamentos fitoterápicos, passando pela RDC n.17 de 2000, e a Resolução n. 48 de 16 de março de 2004, atualmente em vigor, que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos.

O problema de padronização de material derivado de plantas representa um grande desafio, especialmente para reprodução de efeitos biológicos. Derivados botânicos, quando usados com o propósito terapêutico, são mais complicados nos requisitos de composição, constância, estabilidade, contagem microbiológica, etc. (YUNES *et al.*, 2001).

Esta preocupação das autoridades regulatórias com a normatização dos medicamentos fitoterápicos propicia a avaliação de aspectos importantes, como a eficácia e segurança no uso destes medicamentos. O uso tradicional de diversas plantas medicinais baseado em conhecimentos populares, aliado à crença de que, por ser natural não causa reações adversas, fez com que poucas plantas medicinais fossem avaliadas através de estudos pré-clínicos e clínicos, a fim de comprovar sua eficácia e segurança (TUROLLA *et al.*, 2006).

Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais. Na região Amazônica foram catalogadas em duas comunidades que vivem nas margens da Baía do Marajó – PA, 260 plantas entre nativas e cultivadas; 1200 são comercializadas no mercado do Ver-o-Peso, em Belém-PA; outras 242 espécies são cultivadas em quintais residenciais em Belém-PA, dentre elas a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., mais conhecida pela população pelo nome de pariri (AMOROZO ; GELY, 1988).

1.2. *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A planta *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. é conhecida popularmente como cipó-pau, cipó-cruz, carajuru, carapiranga (CORREA, 1984), além de pariri, carajiru, crajiru, carajeru, crejer, entre outras e pertence às famílias das Bignoniaceae, conhecida como a família do Ipê, a qual encerra 120 gêneros com aproximadamente 800 espécies, as quais são encontradas, em sua maior parte, nas regiões tropicais e subtropicais. Com dois grandes

centros de distribuição geográfica, o Brasil e o continente africano, observa-se que o Brasil é, provavelmente, a região onde a família apresenta-se com o maior número de espécies, ocorrendo desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, não possuindo um habitat único (PAULETTI *et al*, 2003).

É caracterizada morfologicamente como planta arbustiva escandente com aproximadamente 2,5 m de altura, apresentando flores róseas ou violáceas, folhas compostas di ou tri foliadas, penaticomposta do tipo imparipenada, e com fitotaxia tipo oposta dística. É comum a presença de folhas modificadas denominadas gavinhas (órgão de suporte), auxiliando na fixação ao substrato (CORRÊA, 1984), (Figuras 1 e 2).



Figura 1: *Arrabidaea chica* (H & B) B. Verlt. plantada em jardim residencial na cidade de Belém – Pa. (Foto do autor)



Figura 2: Floração da *Arrabidaea chica* (H & B) B. Verlt. www.plantamed.com.br

Na planta *Arrabidaea chica*, foram identificados vários pigmentos derivados da cajurina, que produzindo um corante vermelho-escuro servem para tingir toda variedade de fibras artesanais, sendo supostamente eficazes contra dermatoses e impingens (CORREA, 1984) e são comumente utilizados pelos indígenas da Amazônia na sua pintura corporal, para tingir seus enfeites, utensílios e vestuários, bem como para tatuagem, na arte, magia e até como método profilático contra picada de mosquitos e como protetor solar. Estudos químicos relatam o isolamento de fitosteróis, flavonóides e pigmentos utilizados em cosméticos como: carajurona, carajurina e 3-deoxiantocianidina, (ESTRELA, 1995; ZORN *et al*. 2001; DEVIA *et al*. 2002). As propriedades tintoriais dessa planta são devidas a dois pigmentos flavônicos: a carajurina, que é o pigmento principal e a carajurona (GRENARD *et al*, 1987).

É uma planta medicinal usada para o tratamento de cólicas intestinais, diarreias, anemias, inflamações uterinas, hemorragias, impigens, micose e lavagem de ferimentos na pele (CORRÊA, 1984) além de um agente adstringente, sendo seu extrato usado na cosmética em forma de sabonete cremoso produzindo um efeito anti-acne (TAKEMURA, 1995) e atividade antifúngica (BARBOSA; QUIGNARD, 1998).

Daí a importância em se estudar a *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., pois ao longo dos últimos anos, a ocorrência de infecções fúngicas humanas vem apresentando um aumento expressivo, sendo as dermatomicoses as principais infecções responsáveis por esse aumento. Vários fatores estão relacionados ao crescimento dessas infecções fúngicas, entre eles: o melhor diagnóstico laboratorial e clínico, o aumento da sobrevivência de pacientes imunopressores e o emprego de medicamentos imunopressores, utilizados às vezes de forma abusiva, permitindo a instalação de microorganismos convencionalmente saprófitos. O tratamento das micoses humanas não é sempre efetivo, pois os fármacos antifúngicos disponíveis produzem recorrência ou causam resistência, além de apresentarem importante toxicidade. Por esta razão, há uma busca contínua de novos fármacos antifúngicos mais potentes, mas, sobretudo, mais seguros que os existentes (SIDRIM *et al.*, 1999; FENNER *et al.* 2006).

1.3. Tinturas

Consideram-se tinturas as soluções extrativas alcoólicas e/ou hidroalcoólicas obtidas a partir de drogas vegetais, animais e minerais, no estado seco. Entretanto, é comum dar-se a mesma designação às soluções extrativas preparadas com outros solventes, que não o álcool, como o éter, clorofórmio, acetona, etc. (FARMACOPEIA BRASILEIRA II, 1959; PRISTA *et al.* 1996; GENARO, 2004).

O nome tintura provém da circunstância destas formas galênicas se apresentarem coradas, pois sendo soluções extrativas contêm princípios dotados de cor (tanino, por exemplo) e vários pigmentos (clorofila, flavonas, quinonas, etc.) Entre suas vantagens figura a grande riqueza em princípios

ativos, a excelente conservação face às contaminações microbianas e a facilidade de medição posológica que apresentam (PRISTA *et al*, 1996).

Quanto ao método de extração, a maceração é o processo correntemente utilizado para preparar tinturas de drogas não heróicas, devendo macerar-se 200 g de droga em 1000 g de álcool de graduação variável entre 30° e 90°, durante 10 dias (FARMACOPEIA BRASILEIRA II,1959; PRISTA *et al*, 1996; GENARO, 2004).

1.3.1. Extrato liofilizado

A liofilização é um processo de estabilização, no qual uma substância é previamente congelada e então a quantidade de solvente é reduzida, primeiro por sublimação e posteriormente por dessorção, para valores tais que impeçam atividade biológica e reações químicas. A liofilização frequentemente é o método de escolha para a desidratação de fármacos, vacinas, produtos de biotecnologia e diagnóstico, devido as vantagens oferecidas em termos de estabilidade térmica e retenção de atividade durante o processo e durante o subsequente armazenamento do produto liofilizado (AYROSA, 2004; AYROSA *et al*, 2007).

A liofilização é um método controlável de desidratar materiais lábeis, através da dessecação sob pressão reduzida que apresenta várias vantagens quando comparado a outros processos de desidratação. A baixa temperatura, mantida durante todo o processo, evita qualquer alteração química das substâncias sensíveis ao calor e umidade. Por este motivo, um produto seco por esta técnica mantém inalterável a sua composição química original, a sua atividade terapêutica e outras propriedades características. Se for acondicionado convenientemente, poderá manter-se sem alteração por um longo período. Os produtos liofilizados apresentam facilidade na reconstituição devido à estrutura porosa deixada pela saída da água. Isto garante a reprodução fiel do produto original uma vez em contato com a fase líquida primitiva. A liofilização reduz a tendência que certos produtos têm para aglomerarem quando dessecados por outras técnicas, além de reduzir também a perda de constituintes voláteis (AYROSA, 2004).

1.4. Formulações tópicas

As preparações tópicas, seja medicamento ou cosmético, consistem na grande maioria em sistemas semi-sólidos. Estas formulações caracterizam-se por serem semi-sólidas em temperatura ambiente e se tornarem fluidas, quando massageadas mecanicamente durante sua aplicação na pele, e evaporam-se rapidamente formando uma película permeável sobre a mesma. Entre os sistemas semi-sólidos podemos destacar pomadas, pastas, géis, além de cremes e loções (MAIA CAMPOS, 1994; ANSEL *et al.*, 2000; SILVA JÚNIOR, 2006). O avanço tecnológico na indústria de matérias primas cosméticas, aliadas às necessidades de mercado, tem propiciado estudos e a utilização, cada vez mais considerável, desses diferentes veículos (MAIA CAMPOS, 1994; CHORILLI *et al.*, 2007).

Entre as formas farmacêuticas semi-sólidas descritas na literatura, merecem destaque os géis, que consistem na dispersão de um sólido (polímero e derivados da celulose) em um líquido (água ou água/álcool) formando um excipiente transparente ou translúcido (FERREIRA, 2002) e são importantes por apresentarem facilidade de aplicação, fácil espalhabilidade sobre a pele, facilidade de veiculação de fármacos, podendo veicular princípios ativos hidrossolúveis e lipossomas e não serem gordurosos (MAIA CAMPOS, 1994; SILVA JÚNIOR, 2000; CORRÊA *et al.*, 2005).

Geralmente, as substâncias formadoras de géis são polímeros que, quando dispersos em meio aquoso, assumem conformação doadora de viscosidade à preparação. Logo, pode-se definir gel como uma preparação semi-sólida composta de partículas coloidais que não se sedimentam (MAIA CAMPOS *et al.*, 1999; CORRÊA *et al.*, 2005).

O gel é uma opção de sistema de liberação para uso tópico formado basicamente pelo material polimérico. Ele consiste em um sistema semi-sólido composto pela dispersão de grandes moléculas orgânicas interpenetradas pela água (VALENTA *et al.*, 2000; SILVA JÚNIOR, 2006).

Os medicamentos administrados na pele apresentam um inconveniente que é a dificuldade de retenção no local de aplicação. O uso de polímeros em formulações também proporciona um tempo de retenção maior

na pele (FANG *et al.*, 2003). O polímero utilizado como estratégia para liberação de fármaco pode produzir diferentes perfis na cinética de liberação (PILLAI; PANCHAGNULA, 2001; SILVA JÚNIOR, 2006) e vários polímeros vêm sendo usados nas formulações de géis de aplicação cosmética e/ou farmacêutica, e de acordo com as características dos polímeros, os géis podem apresentar natureza iônica ou não-iônica. Os géis de natureza iônica são pH dependentes, ou seja, apresentam-se estáveis em pH neutro ou próximo do neutro. Já os géis de natureza não-iônica possuem estabilidade em ampla faixa de pH, tornando-se possível a veiculação de substâncias de caráter ácido (MAIA CAMPOS *et al.*, 1999).

Entre os géis de natureza não-iônica à base de celulose, o de maior interesse para veiculação de princípios ativos em dermatologia é o gel de hidroxietilcelulose (HEC), que é solúvel em água fria ou quente, tolera bem pH ácido, sendo indicado para a incorporação de ativos que levam a um abaixamento do pH final da formulação (FERREIRA, 2002). A hidroxietilcelulose (HEC) é um polímero gelificante com caráter não-iônico que apresenta facilidade de preparo, por não requerer neutralização e possui estabilidade em uma ampla faixa de pH, sendo amplamente utilizado na área farmacêutica (MAIA CAMPOS *et al.*, 1999; FERREIRA, 2002; CORRÊA *et al.*, 2005).

O tipo de polímero empregado na formulação do gel pode influenciar a estabilidade física do produto, assim como, no seu comportamento sobre a pele (liberação do princípio ativo pelo veículo e formação de filme na pele), (MARTIN, 1993; MAIA CAMPOS *et al.*, 1999).

A penetração de substâncias ativas na pele depende de dois passos consecutivos: liberação dessas substâncias pelo veículo da formulação e, sua subsequente penetração cutânea. As substâncias ativas incorporadas em veículos inadequados podem penetrar pouco ou quase nada na pele. Baseado neste fato, pode-se considerar que estudos sobre os diferentes veículos são de grande importância na área dos produtos farmacêuticos, pois permitem a avaliação das características do produto, além de prever uma melhor estabilidade deste, ao longo do tempo, portanto, de grande importância no estudo de pré-formulação, tanto no planejamento, quanto na avaliação de

formulações farmacêuticas ou cosméticas. (RIEGER, 1996; CHORILLI *et al.*, 2007).

1.5. Atividade antimicrobiana

O estudo de plantas com atividades terapêuticas, sobretudo aquelas com atividade antimicrobiana tem crescido bastante, não apenas por constituir-se um recurso terapêutico alternativo, mas ainda devido às perspectivas de isolar substâncias que apresentem eficácia significativa e menor índice de desvantagens. A procura de propriedades antimicrobianas em plantas vêm crescendo cada vez mais, como resultado à resistência dos microorganismos aos antibióticos comumente usados na terapêutica (ALVES *et al.*, 2006).

Nossos estudos foram direcionados para o desenvolvimento de uma formulação semi-sólida fitoterápica na forma de gel não iônico constituído por hidroxietilcelulose, propilenoglicol e metilparabeno, além do ativo vegetal.

1.6. Planejamento e avaliação de formulações

O ponto de partida para o desenvolvimento de um novo medicamento é denominado por pré-formulação. Esta fase de desenvolvimento é caracterizada como a avaliação das propriedades físico-químicas do fármaco isolado ou associado a diversos adjuvantes (ARAÚJO, 2003), sendo a eficácia e segurança do medicamento desenvolvido, dependente de criteriosos estudos de pré-formulação e produção em concordância com as boas práticas de fabricação (BPM) visando à adequada biodisponibilidade da substância ativa (LACHMAN *et al.*, 2001; ALLEN Jr., 2007).

Cada fármaco ou droga possui características químicas e físicas importantes que precisam ser estudadas antes de sua incorporação em um veículo farmacêutico. Entre estes parâmetros, estão a solubilidade, coeficiente de partição, velocidade de dissolução, forma física de apresentação e estabilidade (ANSEL *et al.*, 2000), e poderão também ser avaliados através de

metodologias como: cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia na região do infravermelho (IV), termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) e outros (VILA JATO, 2001; SILVA JÚNIOR, 2006).

As formulações farmacêuticas fornecem os meios, através dos quais, substâncias farmacologicamente ativas podem ser administradas no organismo, de modo que, as considerações fisiológicas a respeito das vias de administração e as propriedades físico-químicas dos medicamentos, sejam apropriadas. Um produto farmacêutico é formado pela(s) droga(s) em si ou princípio(s) ativo(s) e os adjuvantes (espessantes, aditivos, etc.), onde todos devem estar nas proporções adequadas (SILVA JÚNIOR, 2006).

Os padrões de qualidade das formulações farmacêuticas, dentre outros, incluem a comprovação da atividade no momento da administração e ausência de efeitos colaterais (aspectos toxicológicos), assim como as exigências de boas práticas de fabricação (BPM) são a garantia de qualidade do produto durante sua vida planejada, e os métodos analíticos adequados são necessários para a garantia dessas exigências de qualidade (HATAKEYAMA; QUINN, 1994; SILVA JÚNIOR, 2006).

Sendo os estudos de pré-formulação o ponto de partida para a formulação de um novo medicamento, é imprescindível que nesta fase de desenvolvimento sejam realizados estudos de estabilidade do fármaco na presença dos adjuvantes, pois o fármaco/droga e os adjuvantes devem ser compatíveis uns com os outros para produzir um medicamento que seja estável, eficaz, atrativo, fácil de administrar e seguro (ALLEN Jr., 2007), que devem ser realizados por métodos de análises adequados como: análise térmica (TG, DTA e DSC), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectroscopia na região do infravermelho (IV) (CARSTENSEN, 1995; BILIA *et al.*, 2001; LACHMAN, 2001; VILA JATO, 2001; ARAÚJO, 2003).

1.6.1. Espectroscopia na região do infravermelho

A espectroscopia na região do infravermelho é um tipo de espectroscopia de absorção que usa a região do infravermelho no espectro eletromagnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra, e se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamadas, nesse caso, de *níveis vibracionais*). Tais frequências dependem da forma da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento vibrônico (VIANA, 2008).

Define-se espectroscopia no infravermelho, como a medida da absorção, por parte de compostos químicos analisados, de uma radiação eletromagnética em que o comprimento de onda se situa na faixa de 10^{-4} a 10^{-2} cm, sendo este espectro único para cada substância com exceção aos isômeros ópticos que em solução apresentam espectros idênticos (VIANA, 2008).

A espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIV) é uma técnica de análise para colher o espectro infravermelho mais rapidamente. Em vez de se coletar os dados variando-se a frequência da luz infravermelha monocromática, a luz IV (com todos os comprimentos de onda na faixa usada) é guiada através de um interferômetro. Depois de passar pela amostra o sinal medido é o interferograma. Realizando-se uma transformada de Fourier no sinal resulta-se em um espectro idêntico ao da espectroscopia IV convencional (dispersiva) (VIANA, 2008).

Em muitos estudos, os dados de análise em infravermelho além de fornecerem características estruturais do material ativo, também auxiliam na seleção de componentes da formulação. Dependendo da natureza química da substância em estudo, há várias opções de instrumentos analíticos que podem auxiliar no estudo de pré-formulação e doseamento como, por exemplo: cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia gasosa

(CG), ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C , análise térmica (AT), etc. (SILVA JÚNIOR, 2006).

O estudo de estabilidade do fármaco ou droga e de sua associação com o veículo devem ser avaliados, pois é comum o fármaco sofrer decomposições em consequência de reações indesejadas com componentes do veículo em função do pH, temperatura, radiação, luz ou umidade, afetando também a estabilidade do sistema. Os sistemas semi-sólidos são sensíveis a todos estes fatores e um planejamento racional da formulação é imprescindível para o sucesso da forma farmacêutica. As características químicas de cada excipiente podem ser avaliadas isoladamente, misturando com componente ativo ou com outros excipientes da formulação (CARSTENSEN, 1995; BILIA *et al.*, 2001; SILVA JÚNIOR, 2006).

Quando a abordagem é aplicada para análise de extratos naturais, o estudo de pré-formulação torna-se mais difícil, pois, muitas vezes, os marcadores disponíveis sofrem alterações em função de pH, polaridade de solvente, temperatura e interações (excipiente e veículo). Ao formular produtos, contendo ativos naturais é fundamental a identificação padronizada de marcadores ou o desenvolvimento de métodos que permitam a quantificação de grupos químicos purificados antes, durante e após o processo de obtenção (SILVA JÚNIOR, 2006).

Com os resultados de todos os estudos realizados na fase de pré-formulação se elabora um informe que definirá a viabilidade da forma farmacêutica proposta, a metodologia que se deve seguir no desenvolvimento na fase de formulação e elaboração (VILA JATO, 2001).

1.6.2. Análise térmica

Análise térmica é um termo usado para descrever as técnicas analíticas que medem as propriedades físicas e químicas de uma amostra com uma função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura. A amostra está sujeita a um esquema de temperatura que consiste de uma série de segmentos pré-selecionados, nos

quais a amostra é aquecida ou resfriada a uma taxa constante ou mantida a uma temperatura constante (GIOLITO; IONASHIRO, 1988).

Nas últimas décadas, as técnicas termoanalíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. Esse incremento na utilização dessa metodologia, realmente dotada de grande potencialidade, foi favorecido pela disponibilidade de instrumentos controlados por microprocessadores, capazes de fornecer informações quanto ao comportamento térmico dos materiais de forma precisa e num tempo relativamente curto. Estes métodos são largamente usados no controle de qualidade de drogas naturais ou sintéticas, pois fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade do material analisado, perante seu comportamento térmico (GIOLITO; IONASHIRO, 1988).

A termogravimetria (TG), a análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) para estudo de pré-formulação ou compatibilidade fármaco-excipiente vêm ganhando importância crescente no Brasil. Dentre vários trabalhos publicados nesta área destacam-se, entre outros, aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichi.) *Minispermaceae* (ARAGÃO *et al.*, 2002); a análise térmica e o estudo de compatibilidade de zidovudina com excipientes (ARAÚJO *et al.*, 2003); estudo de estabilidade térmica de metronidazol em comprimidos (SOUSA *et al.*, 2003); estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial (BAZZO; SILVA, 2005); estudo termoanalítico de glibenclamida e excipientes (OLIVEIRA *et al.*, 2005); estudo termoanalítico (TG, DTG e DSC) dos cafés *in natura* e processados (SCHNITZLER *et al.*, 2005); estudo, caracterização e determinação do grau de pureza de amostras comerciais de sacarina (SCHNITZLER *et al.*, 2005); determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica (ARAÚJO *et al.*, 2006); avaliação físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. (SILVA JÚNIOR *et al.* 2006); avaliação da compatibilidade entre a fluoxetina e excipientes usados na fabricação de cápsulas pela farmácia magistral (STULZER; TAGLIARI, 2006); estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na

terapêutica da tuberculose (ALVES, 2007); estabilidade térmica e compatibilidade da hidroquinona (TAGLIARI *et al.*, 2008).

1.6.2.1. Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG) é a técnica na qual a variação de massa de uma substância é medida, quando esta é submetida a uma programação controlada de temperatura, ou seja, é a técnica pela qual se determinam as perdas ou ganhos de massa de uma substância em função da temperatura ou do tempo (GIOLITO; IONASHIRO, 1988; ARAÚJO, 2003).

O termo termogravimetria (TG) é comumente empregado, particularmente em polímeros, no lugar de termogravimetria (TG) por ser seu precedente histórico e para minimizar a confusão verbal com *T_g*; a abreviação da temperatura de transição vítrea (IONASHIRO; GIOLITO, 1988).

A medição por meio de termogravimetria (TG) da massa de uma amostra que está sujeita a um esquema de temperatura, é realizada em uma atmosfera definida, geralmente em condições inertes (nitrogênio) ou em ambiente oxidativo (ar ou possivelmente oxigênio). A massa é medida em uma balança eletrônica altamente sensível e os efeitos de interferência da flutuação de gás são compensados por uma correção de uma curva chamada de linha de base (IONASHIRO; GIOLITO, 1988).

A termogravimetria fornece informações sobre o conteúdo dos componentes voláteis como solventes ou água, sobre o comportamento de decomposição e conteúdo de cinzas (IONASHIRO; GIOLITO, 1988).

A aplicação da termogravimetria para um problema particular é possível se uma mudança de massa for observada, caso a mudança de massa não seja observada, podem ser utilizadas outras técnicas térmicas tais como: análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC).

1.6.2.2. Análise térmica diferencial (DTA)

A análise térmica diferencial (DTA) registra a diferença de temperatura (ΔT) entre uma substância e um material de referência termicamente estável em função da temperatura, enquanto a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura (GIOLITO, 1988; ARAÚJO, 2003).

O uso principal da DTA é detectar a temperatura inicial dos processos térmicos e qualitativamente caracterizá-los como endotérmico e exotérmico, reversível e irreversível, transição de primeira ordem ou de segunda ordem, entre outros (GIOLITO, 1988).

O principal motivo, pelo qual esta técnica tem sido empregada como uma metodologia analítica de caracterização qualitativa e quantitativa, é a grande variedade de materiais que podem ser analisados e a rapidez com que os resultados são obtidos.

As vantagens dos métodos termoanalíticos em relação a outros métodos analíticos estão apresentadas a seguir:

- a) A amostra pode ser estudada através de ampla faixa de temperatura, utilizando-se várias programações;
- b) Mais de uma forma física de amostra (sólido, líquido ou gel) podem ser analisadas, utilizando-se uma variedade de recipientes de amostra ou acessórios;
- c) Necessidade de uma pequena quantidade de amostra (0,1 mg – 1,0 mg);
- d) A atmosfera ao redor da amostra pode ser padronizada;
- e) O tempo necessário para análise é relativamente curto.

1.6.3. Cromatografia

A cromatografia é um método físico-químico de separação, fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária. A grande variedade de combinações entre fases móveis

e fases estacionárias a torna uma técnica extremamente versátil e de grande aplicação (COLLINS *et al.*, 1997; DEGANI *et al.*, 1998).

A versatilidade desta técnica reside no grande número de fases estacionárias existentes, as quais possibilitam análises e separações de uma ampla gama de compostos com alta eficiência. Tem sido utilizada em várias áreas da ciência, no acompanhamento de sínteses, no isolamento de produtos naturais ou sintéticos e na produção do controle de qualidade de medicamentos, dentre outras aplicações (COLLINS *et al.*, 1997; DEGANI *et al.*, 1998).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é o método mais utilizado para a análise quantitativa de fitoterápicos, apresenta maior sensibilidade, não necessita de grandes quantidades de amostra e é mais específica em analisar misturas complexas (LACHMANN *et al.* 2001).

A cromatografia, aliada as outras técnicas, permite evidenciar ainda a ocorrência ou não de possíveis degradações que tenham acontecido durante o processo de obtenção do produto (LACHMANN *et al.* 2001; SILVA JÚNIOR, 2006).

2. OBJETIVOS

2.1. Geral

Realizar estudos de alguns parâmetros farmacopeicos e estudos preliminares de pré-formulação de folhas e caule da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

2.2. Específicos

- Análise farmacognóstica das folhas e caule da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
- Caracterização química e físico-química do pó das folhas da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
- Obtenção e caracterização química e físico-química da solução extrativa de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
- Avaliação da atividade antimicrobiana da solução extrativa de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
- Planejamento / pré-formulação de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
 - Espectroscopia na região do infravermelho do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.
 - Obtenção do comportamento térmico: (TG e DTA) do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bpnpl.) B. Verlt.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

3.1.1. Matéria-Prima Vegetal

- Nome científico: *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl) B. Verlt;
- Família botânica: Bignoniaceae;
- Parte usada: folhas jovens e maduras

3.1.2. Reagentes e Soluções

Ácido sulfúrico P.A., ácido clorídrico P.A., álcool etílico absoluto P.A., ácido fosfórico a 85%, metanol P.A., éter etílico P.A., lugol, fucsina básica 1%, azul de Astra, glutaraldeído 2,5%, fosfato de sódio 0,1M, hidroxietilmetacrilato, solução de hidróxido de sódio a 1N e 2N, solução de NH₄OH à 10 %, solução alcoólica de FeCl₃ a 1%. solução de nitroprussiano de sódio , solução aquosa de niidrina a 1%, solução de HCl a 5%, solução de HCl a 1N e 6N, solução de NH₄OH 6N, solução alcoólica de cloridrato de hidroxilamina a 10%, solução metanólica de KOH a 10 %, solução de anidrido acético, raspas de magnésio, H₂O₂ concentrado, reativo de Pascová, reativo de Fehling A e B, reativo de Bouchard, reativo de Dragendorff, reativo de Mayer, reativo de Bertrand e reativo de Keede.

3.1.3. Equipamentos

Agitador de peneiras marca Bertel; moinho de facas de aço inoxidável Tecnal - modelo TCL-650 agitador magnético Mag-multi – MARTE; placa aquecedora FANEM – 186; balança analítica GEHAKA – BK 500 – II; micrótopo de rotação Jung; fotomicroscópio Medlux - modelo XSZ-150Ai;

câmara de luz ultravioleta com comprimento de onda 254nm e 365nm, liofilizador Virtis Freezemosile 12 ES, analisador térmico Shimadzu (DTA 50; TG 50); infravermelho marca FTIR (FOURRIER) – Nicolet, modelo Protegê 460; estufa Quimis; evaporador rotatório Quimis; cromatógrafo marca Merck-Hitachi, modelo LaChrom D-7000; ultra-som UltraSonic Cleaner – modelo Maxi Clean 1450; mufla Forlabo; pHmetro modelo DM 20 - Digimed; analisador de umidade OHAUS – MB 45, cromatógrafo marca Merck-Hitachi, modelo LaChrom D-7000.

3.2. Métodos:

Partes das análises (a seguir discriminadas) foram realizadas nos laboratórios de Farmacotécnica, Fitoquímica, Bromatologia e de Microbiologia Clínica da Faculdade de Farmácia/UFPA e no Laboratório de Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da UFPA, outras análises, como a liofilização da tintura, as termogravimetria e por infravermelho foram realizadas na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP – São Paulo.

3.2.1. Material vegetal

O material vegetal foi obtido junto à Associação dos Vendedores de Ervas do Mercado do Ver-o-Peso (Ver-a-Erva), procedente da região metropolitana de Belém-PA., distrito de Icoaraci (bairro do Benguí), coletado no mês de janeiro de 2007.

3.2.2. Identificação botânica do material vegetal

O material foi identificado pelo Dr. Mário Augusto Gonçalves Jardim, no herbário do Museu Paraense Emílio Goeldi, em exsicata sob nº MG 1050701 e MG 123919.

3.2.3. Análise farmacognóstica das folhase caule da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Os estudos microscópios foram realizados com material fixado em glutaraldeído 2,5%, em tampão fosfato de sódio 0,1M (pH 7,2) e desidratado em série gradual etílica crescente para infiltração em hidroxietilmetacrilato. As secções foram feitas em micrótomo de rotação para a confecção das lâminas permanentes. O material foi corado com fucsina básica 1% e azul de Astra e observado em microscópio óptico e fotomicrografado.

3.2.4. Processamento do material vegetal

A planta fresca, depois de colhida, foi submetida à lavagem com água corrente para a retirada das sujidades e passada ligeiramente no álcool etílico a 70%, a fim de se promover sua desinfecção. Após este procedimento, o material vegetal foi submetido à secagem prévia, por aproximadamente 72 horas, à temperatura ambiente, sobre bancadas do laboratório de farmacotécnica da UFPA, previamente limpas e sanitizadas e revestidas com papel absorvente. Após esta secagem prévia, o material vegetal foi transferido à central de extração no Departamento de Química desta mesma universidade, onde foi colocada em uma estufa de ar circulante e lá permaneceu por sete dias, a uma temperatura entre 42 e 45°C. Após a retirada da planta já seca da estufa, esta foi triturada em moinho de facas inoxidável e o produto obtido desta etapa foi o pó.

3.2.5. Obtenção e caracterização química e físico-química do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

3.2.5.1. Determinação da distribuição granulométrica do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Exatamente 10 g da planta seca pulverizada foram submetidos à série de tamizes com abertura de malha (2,36 e 1,40 mm; 850, 710, 600, 500, 355, 300, 250, 212 e 180 µm) usando-se um agitador de peneiras, durante 20 minutos. O tamanho das partículas foi avaliado pela quantificação percentual de retenção do pó (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.5.2. Determinação de perda por dessecação do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Exatamente 3 g do pó da planta foram transferidos para pesa-filtro. A amostra foi submetida a aquecimento em estufa a 105°C durante 2 horas, seguida de resfriamento em dessecador e pesagem (COSTA, 1982; FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988). A operação foi repetida até obtenção de peso constante. Os resultados de três determinações foram avaliados em termos de porcentagem ponderal sobre a quantidade da amostra, utilizando a equação:

$$\% \text{ perda} = \frac{P_u - P_s}{P_a} \times 100 \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:

P_a = peso da amostra (g)

P_u = peso do pesa-filtro contendo a amostra antes da dessecação (g)

P_s = peso do pesa-filtro contendo a amostra após a dessecação (g)

3.2.5.3. Determinação do teor de cinzas totais do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Exatamente 3 g do pó, foram transferidos para cadinho de porcelana previamente calcinado, resfriados e tarados nas condições empregadas durante a análise propriamente dita. As amostras dos pós nos cadinhos foram então carbonizadas em mufla a 450 °C por 2 horas. Após resfriamento em dessecador sob vácuo, as mesmas foram pesadas em balança analítica, repetindo-se o procedimento até a obtenção de peso constante. A percentagem de cinzas foi calculada em relação à droga seca (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.5.4. Espectroscopia na região do infravermelho do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Na análise por espectroscopia na região do infravermelho do pó as bandas de absorção foram obtidas com o uso de espectrofotômetro de infravermelho marca FTIR (FOURRIER) – Nicolet, modelo Protegêê 460. As leituras foram realizadas em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000cm⁻¹. Quantidades apropriadas da droga vegetal foram comprimidas com brometo de potássio (KBr).

3.2.5.5. Obtenção do perfil térmico (TG e DTA) do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

As análises termoanalíticas do pó de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. foram realizadas por termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). Estas análises foram obtidas com um analisador térmico Shimadzu (TG 50, DTA 50), nas seguintes condições abaixo relacionadas:

Razão de aquecimento: 5 °C/min.;

Peso da amostra: aproximadamente 5 mg;

Faixa de temperatura: 25 – 600 °C;

Atmosfera: nitrogênio;

Fluxo: 25,00 mL/min;

Material da célula: alumínio

3.2.6. Obtenção e caracterização física, química e físico-química da solução extrativa

3.2.6.1. Obtenção da tintura de *Arrabidaea chica*(Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

O processo extrativo em questão foi baseado na Farmacopéia Brasileira II (1959), empregando-se a maceração por 10 dias em percolador tampado, usando-se a proporção de 200 g do pó da planta para obtenção de 1000 mL de tintura. O sistema solvente empregado para a espécie foi uma mistura hidroetanólica 70% (v/v). Durante todo o processo, o material esteve ao abrigo da luz e em temperatura ambiente.

3.2.6.2. Determinação do pH da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A determinação do pH foi realizada em potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 e os resultados correspondem à média de três determinações.

3.2.6.3. Determinação da densidade aparente da tintura de *Arrabidaea chica*(Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A análise da densidade relativa da tintura foi realizada segundo a metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988). Um picnômetro com capacidade para 5 mL, previamente tarado, foi preenchido

com o líquido padrão (água recém destilada e fervida) e pesado. Em seguida o picnômetro foi lavado com a amostra e pesado. A relação entre o peso do padrão e da amostra, em um volume fixo, forneceu o valor da densidade relativa do extrato.

3.2.6.4. Determinação do teor de sólidos da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Cerca de 0,77 mg da tintura foi empregada durante a análise no analisador de umidade OHAUS – MB 45 e os resultados correspondem à média de três determinações.

3.2.6.5. Espectroscopia na região do infravermelho do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

O extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. foi analisada e os espectros foram obtidos com o uso de um Espectrofotômetro de Infravermelho Marca (FTIR) – Nicolet, Modelo Protegê 460 processado com transformador de FOURRIER. As leituras foram realizadas em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . Quantidades apropriadas da droga vegetal foram comprimidas com KBr.

3.2.6.6. Obtenção do perfil térmico (TG e DTA) do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A análise da perda de massa do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. foi realizada por termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). Estas análises foram obtidas através de um analisador térmico Shimadzu (TG 50, DTA 50; DSC 50) nas condições abaixo relacionadas:

Razão de aquecimento: 5 °C/min.;
Peso da amostra: aproximadamente 5 mg;
Faixa de temperatura: 25 – 600 °C;
Atmosfera: nitrogênio;
Fluxo: 25,00 mL/min;
Material da célula: alumínio

3.2.6.7. Obtenção do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Para obtenção do extrato seco da planta, a tintura foi colocada em balão de fundo redondo e levada para concentrar em um rotaevaporador e em seguida o extrato foi levado à estufa em temperatura média de 40°C até a total evaporação de resíduos de solvente.

3.2.6.8. Obtenção da fração flavonoídica de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A fração flavonoídica foi preparada através de extração sólido-líquido. Partindo-se de 500 mg de extrato seco do material vegetal, ao qual foram adicionados 20 mL de hexano P.A., e levando-se a amostra ao aparelho de ultra-som durante 5 minutos. Em seguida o material foi levado para centrifuga por 10 minutos. Separou-se o sobrenadante do precipitado em béqueres diferentes. Ao sedimento, adicionou-se 10 mL de hexano e levou-se ao ultra-som e centrifuga da mesma forma realizada anteriormente. Repetiu-se este processo mais 5 vezes, até que o sobrenadante se tornasse claro, quando então iniciou-se a próxima fase, a partir do resíduo obtido. Ao sedimento da fase anterior, adicionou-se 50 mL de clorofórmio P.A. (em alíquotas semelhantes à adição do hexano), levando-se a amostra ao aparelho de ultra-som por 5 minutos, repetindo-se o mesmo procedimento da fase anterior. Ao sedimento, adicionou-se 50 mL de acetato de etila P.A. (em alíquotas semelhantes as fases anteriores) e levou-se a amostra ao aparelho de ultra-

som. A fração acetoetanólica obtida foi evaporada em rotaevaporador e o material sólido obtido determinou-se como sendo a fração flavonoídica.

3.2.6.9. Prospecção química do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A prospecção química do extrato seco visou identificar a presença de constituintes químicos naturais, como: ácidos orgânicos, açúcares redutores, alcalóides, aminoácidos, antraquinonas, catequinas, depsídeos, depsidonas, derivados da cumarina, esteróides, fenóis, flavonóides (antocianinas, antocianidinas, auronas, catequinas (taninos catéquicos), chalconas, flavonas, flavanonas, flavonóis, flavanonóis, leucoantocianidinas, xantonas), glicosídeos cardíacos, polissacarídeos, proteínas, purinas, saponinas, sesquiterpenolactonas e outras lactonas, taninos e triterpenóides, segundo a metodologia descrita em Barbosa, 2001, com o seguinte procedimento experimental:

Ácidos orgânicos:

Dissolvem-se 5 mg do extrato seco em 5 mL de água destilada e filtrados. Transfere-se 2 mL da solução já filtrada para um tubo de ensaio e adiciona-se gotas do reativo de Pascová. Se houver descoloração do reativo, a reação é positiva.

Açúcares redutores:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Adicionou-se 2 mL do reativo de Fehling A e 2 mL do reativo de Fehling B. Aqueceu-se em banho Maria em ebulição durante 5 minutos. O aparecimento de um precipitado vermelho tijolo, indicou a presença de açúcares redutores.

Alcalóides:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de solução de HCl a 5% (v/v) e filtrados. Separou-se quatro porções e adicionou-se 1mL em cada uma de três cavidades em placa de toque e adicionou-se III gotas dos reativos de Bouchard, Dragendorff, Mayer e Bertrand. Precipitação ou turvação em pelo menos uma cavidade é indicativa de resultado positivo.

Antraquinonas:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de tolueno e filtrados. Adicionou-se 2 mL de solução de NH₄OH à 10 % (v/v) e agitou-se suavemente. O aparecimento de coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indica reação positiva.

Flavonoides:

-Geral:

Dez miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 10 mL de metanol e filtrados. Adicionou-se 5 gotas de HCl concentrado e raspas de magnésio. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva.

- Por classes:

a) Antocianidinas, antocianinas, flavonas, flavononóis, xantonas, chalconas, auronas e flavanonóis:

Dez miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Transferiu-se para três tubos de ensaio, 3 mL da solução (para cada tubo). Acidulou-se um a pH 3, alcalinizou-se os dois restantes a pH 8.5 e 11;

- A presença de coloração vermelha em pH 3, lilás em pH 8.5 e azul púrpura em pH, 11 indica resultado positivo para antocianidinas e antocianinas;
- A presença de coloração amarela em pH, 11 indica resultado positivo para flavonas, flavonóis, xantonas;
- A presença de coloração vermelha em pH 3 e vermelho púrpura em pH, 11 indica resultado positivo para chalconas, auronas;
- A presença de coloração vermelho laranja em pH, 11 indica resultado positivo para flavanonóis.

b) Leucoantocianidinas, catequinas e flavanonas.

Dez miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Transferiu-se para dois tubos de ensaio, 3 mL da solução (para cada tubo). Acidulou-se um a pH 1 – 3 com HCl e alcalinizou-se os outros a pH 11 com solução de NaOH. Aqueceu-se com auxílio de uma lâmpada de álcool durante 2 – 3 minutos e observou-se se houve modificação na coloração, comparando-se com os tubos utilizados no teste anterior (para antocianidinas, antocianinas, flavonas, flavononóis, xantonas, chalconas, auronas e flavanonóis).

- A presença de coloração vermelho em pH ácido indica resultado positivo para Leucoantocianidinas;
- A presença de coloração pardo - amarela em pH ácido indica resultado positivo para catequinas (taninos catéquicos);
- A presença de coloração vermelho - alaranjado em pH alcalino indica resultado positivo para flavanonas.

c) Flavonóis, flavanonas, flavanonóis e xantonas.

Transferiu-se para um tubo de ensaio, 3 mL da solução extrativa usada no teste anterior e acrescentou-se alguns miligramas de magnésio em raspas, e 0,5 mL de HCl concentrado. Aguardou-se o término da efervescência e observou-se por comparação a mudança na coloração em relação aos tubos acidificados dos testes anteriores. O aparecimento ou intensificação da cor vermelha é indicativo da presença dos metabólitos acima citados.

Fenóis e taninos:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Adicionou-se 2 gotas de solução alcoólica de FeCl_3 a 1%. Qualquer mudança na coloração ou formação de precipitado é indicativo de reação positiva, quando comparado com o teste em branco. Coloração inicial entre o azul e o vermelho, é indicativo da presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo; precipitado escuro de tonalidade azul, indica presença de taninos pirogálicos, e verde, presença de taninos catéquicos.

Glicosídeos cardíacos:

- a. Cinco miligrama do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de metanol e filtrados. Separou-se em duas porções de 2 mL cada e adicionou-se gotas do reativo de Keede. O aparecimento de coloração azul ou violeta indica reação positiva.
- b. Adicionou-se III gotas de solução recente de nitroprussianato de sódio e III gotas de solução de hidróxido de sódio 2N. O aparecimento de coloração roxa intensa indica reação positiva.

Catequinas:

Cinco miligrama do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de metanol e filtrados. Juntou-se 1 mL de solução aquosa de vanilina a 1% e 1 mL de HCl concentrado. O surgimento de uma coloração vermelha intensa indica reação positiva.

Polissacarídeos:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Adicionou-se 2 gotas de lugol. O aparecimento de coloração azul, indica resultado positivo.

Proteínas e aminoácidos:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada e filtrados. Adicionou-se 0,5 mL de solução aquosa de nihidrina a 1% e aqueceu-se até ebulição. O aparecimento de coloração violeta persistente indica reação positiva.

Purinas:

Numa cápsula de porcelana, juntou-se 5 mg do extrato seco, III gotas de solução de HCl 6N e II gotas de H₂O₂ concentrado (30%) e evaporou-se em banho Maria até a formação de um resíduo corado de vermelho. Juntou-se 3 gotas de solução de NH₄OH 6N. O surgimento de coloração violeta indica reação positiva.

Saponina espumidica:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de água destilada. Em seguida, diluiu-se para 15 mL e agitou-se vigorosamente durante 2 minutos em tubo fechado. Se a camada de espuma permanecer estável por mais de meia hora, o resultado é considerado positivo.

Sesquiterpenolactonas e outras lactonas:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de metanol e filtrados. Adicionou-se 12 gotas de solução alcoólica de cloridrato de hidroxilamina a 10% e 2 gotas de solução metanólica de KOH a 10%. Aqueceu-se suavemente em banho Maria durante 2 minutos. Em seguida resfriou-se e acidulou-se com solução de HCl a 1N e adicionou-se 1 gota de FeCl₃ 1%. O surgimento de uma coloração violeta indica reação positiva.

Esteróides e triterpenóides:

Dez miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 10 mL de clorofórmio e filtrados sobre carvão ativado. Transferiu-se o filtrado para um tubo de ensaio completamente seco e adicionou-se 1 mL de anidrido acético e agitou-se suavemente. Em seguida, adicionou-se cuidadosamente, 3 gota de H₂SO₄ concentrado e agitou-se novamente. O rápido desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente, ao verde persistente indicam resultado positivo.

Depsídios e Depsidonas:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de éter etílico e filtrados. Evaporou-se todo o éter em banho Maria e juntou-se ao resíduo 3 mL de metanol. Após agitação, adicionou-se 3 gotas de solução de FeCl₃ a 1%. O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, indica reação positiva.

Derivados da Cumarina:

Cinco miligramas do extrato seco foram dissolvidos em 5 mL de éter etílico e concentrados em banho Maria até 0,5 mL. Em papel filtro, aplicaram-se gotas da solução etérea, de modo que formou-se duas manchas de aproximadamente 1 cm de diâmetro cada. A uma destas, adicionou-se 1 gota de solução de NaOH a 1N. Cobriu-se a metade da mencha com papel escuro, e expôs-se a outra metade a luz ultravioleta. Descobriu-se e comparou-se as manchas. O aparecimento de fluorescência azul na parte exposta da mancha indica reação positiva.

3.2.6.10. Determinação do perfil cromatográfico do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. obtido por cromatografia em camada delgada (CCD)

O perfil cromatográfico em CCD da tintura previamente concentrada por evaporação a pressão reduzida e posteriormente seca em estufa a 40°C (extrato seco) foi determinado segundo a metodologia descrita em Barbosa (2001), onde 5 mg do extrato seco foram dissolvidos em metanol e aplicados com auxílio de um tubo capilar, na base da placa cromatográfica padronizadas Merck e eluidas em cuba saturada com eluentes de polaridade diversa [(clorofórmio/metanol/água (75:20:5) e hexano/acetato de etila (80:20)]. Após a eluição os cromatogramas foram observados sob luz visível e sob de luz ultravioleta nos comprimentos de onda 254nm e 365nm. As manchas observadas foram reveladas aspergindo-se sobre as mesmas uma solução de anisaldeído e solução de cloreto férrico a 5%.

3.2.6.11. Determinação do perfil cromatográfico da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. obtido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O perfil cromatográfico da tintura em CLAE foi obtido em cromatógrafo marca Merck-Hitachi, modelo LaChrom D-7000, nas seguintes condições:

Canal detector 1: L-7455

Coluna de aquecimento: L-7300

Bomba A: L-7100

Fase móvel:

Solvente A: água pH 3 (H₃PO₄ conc. 85%).

Solvente B: acetonitrila

Coluna: Agilent LiChrospher 100mm x 5mm x 250mm x 3 µm

Pressão na bomba A: 6 a 350 bar

Fluxo: 1mL/min

Tempo: 40 min

3.2.6.12. Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Os testes de suscetibilidade antimicrobiana foram realizados através do método de disco difusão em agar (BAUER *et al.*, 1966; CLSI, 2003; KARTAL *et al.*, 2003; SANTOS *et al.*, 2007) com o seguinte procedimento:

As cepas usadas foram – Bactérias: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) e Fungos: *Candida albicans* (ATCC 10231).

Foram preparados inóculos do microrganismo tomando-se 3 a 4 colônias da cepa isolada em agar Müller Hinton (para bactérias) e agar Saboureaud (para fungos) e diluídas em solução salina a 0,85% (p/v) até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland correspondendo aproximadamente 1 a 2 x 10⁸ UFC/mL (CLSI, 2003).

Cada suspensão de microrganismo foi semeada, com auxílio de um swab esterilizado, em toda a superfície de meio agar Müller Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro (Whatman – tipo 3), de 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 µL da tintura de pariri. Após incubação das placas a 35°C por 24 h foi realizada a leitura dos resultados medindo-se o halo, em mm, formado ao redor dos discos contendo a tintura. Foi considerado como resultado final a média das 3 medidas e como suscetível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro (PAREKH; CHANDA, 2007; SANTOS *et al.* 2007). Discos com cloranfenicol 30 µg, fluconazol 50 mg e álcool etílico foram utilizados como controle.

A determinação da concentração inibitória mínima (CIM) foi realizada pelo método de microdiluição em placas com leitura em leitor de Elisa a 650 nm.

3.3. Planejamento da formulação proposta

3.3.1. Composição da formulação proposta

A composição da fórmula do gel proposto para veicular o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. teve como base o gel de hidroxietilcelulose a 1,5 % (tabela 1).

Tabela 1: Composição da fórmula do gel base, proposto para veicular o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Componentes	Concentração (%)
Hidroxietilcelulose	1,5
Propilenoglicol	5
Metilparabeno	0,1
Água destilada q.s.p.	100

3.3.2. Avaliação preliminar da associação dos adjuvantes da formulação proposta

3.3.2.1. Espectroscopia na região do infravermelho dos adjuvantes da formulação proposta e de suas misturas físicas com o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Os excipientes e suas misturas físicas com o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. foram analisados e os espectros foram obtidos com o uso de um Espectrofotômetro de Infravermelho Marca (FTIR) – Nicolet, Modelo Protegêê 460 processado com transformador de FOURRIER. As leituras foram realizadas em comprimento de onda na faixa de

400 a 4000 cm^{-1} . Quantidades apropriadas da droga vegetal foram comprimidas com KBr.

3.3.2.2. Obtenção do perfil térmico (TG e DTA) dos adjuvantes da formulação proposta e de suas misturas físicas com o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (H&B) Verlt.

O perda de massa dos adjuvantes da formulação e de suas misturas físicas com o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (H&B) Verlot. foram realizados por termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA). Estas análises foram obtidas através de um analisador térmico Shimadzu (TG 50, DTA 50) nas condições abaixo relacionadas:

Razão de aquecimento: 5 °C/min.;

Peso da amostra: aproximadamente 5 mg;

Faixa de temperatura: 25 – 600 °C;

Atmosfera: nitrogênio;

Fluxo: 25,00 mL/min;

Material da célula: alumínio

4. RESULTADOS

4.1. Análise farmacognóstica das folhas e caules da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.1.1. Descrição da anatomia caulinar

Em corte transversal, o caule se apresenta constituído de casca ou córtex e cilindro central, em estrutura secundária, envolvido por uma periderme, contendo na superfície do súber algumas lenticelas, além de apresentar um felogênio bem característico e feloderma (figuras 3, 4 e 5). O parênquima cortical externo apresenta fibras isoladas e calotas de fibras, enquanto que o parênquima cortical interno apresenta faixas esclerenquimáticas contínuas entre as células parenquimáticas (figuras 5 e 6). O floema secundário é estreito e está comprimido entre o parênquima cortical interno e o xilema secundário. O câmbio vascular encontra-se bastante diferenciado entre o floema e a camada mais externa de crescimento de xilema (Figura 8). No cilindro central, encontra-se um parênquima medular (figura 4).

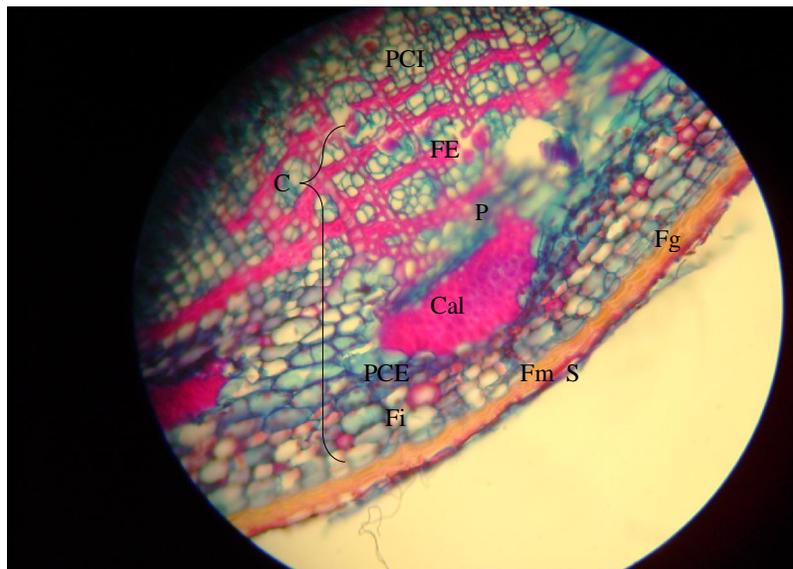


Figura 3: Anatomia do caule secundário em corte transversal (aumento 400 vezes). Aspecto apresentado pela casca (C): periderme formada por súber (S), felogênio (Fg) e feloderma (Fm); parênquima cortical externo (PCE) contendo fibras isoladas (Fi) e calotas de fibras (Cal); parênquima cortical interno (PCI) contendo faixas esclerenquimáticas contínuas (FE) entre as células parenquimáticas (P); floema secundário estreito (Flo).

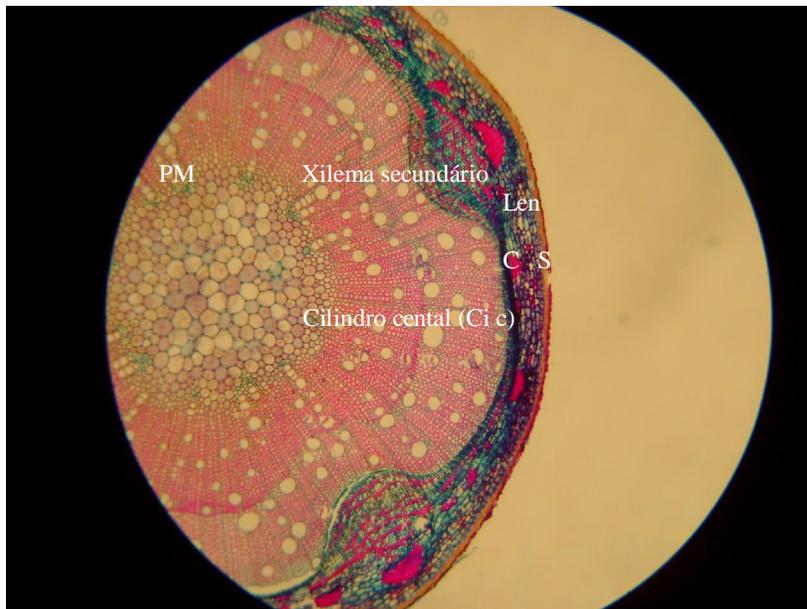


Figura 4: Corte transversal do caule (100 x) em estrutura secundária: súber (S) contendo lenticela (Len); casca ou córtex (C); cilindro central (Ci c), formado por dois anéis de xilema secundários e parênquima medular (PM).

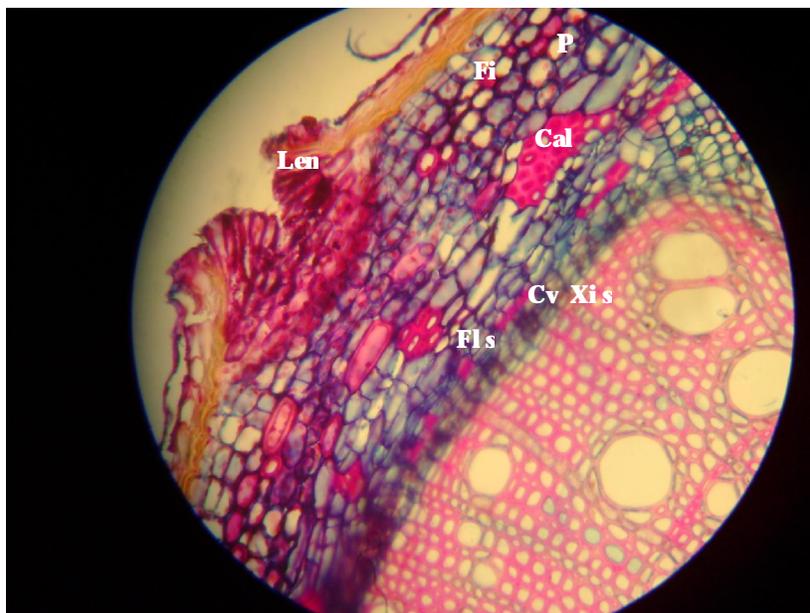


Figura 5: Detalhe do corte transversal do caule (400x), evidenciando a presença de uma lenticela (Len) no súber; felogênio (Fg) com células em divisão; fibras isoladas (Fi) e em calotas (Cal) entre as células parenquimáticas (P), floema secundário (Fl s) comprimido entre o parênquima cortical interno e o xilema secundário (Xi s); câmbio vascular (Cv).

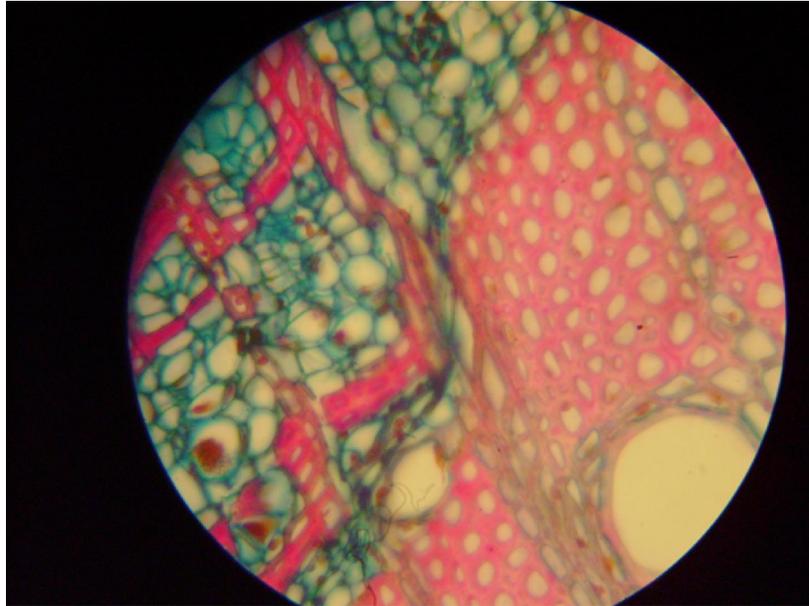


Figura 6: Corte transversal do caule (400x) em estrutura secundária. Detalhe da presença de faixas de fibras (FE) em parte do parênquima cortical interno, no limite com o câmbio vascular (CV) entre o xilema e floema secundários.

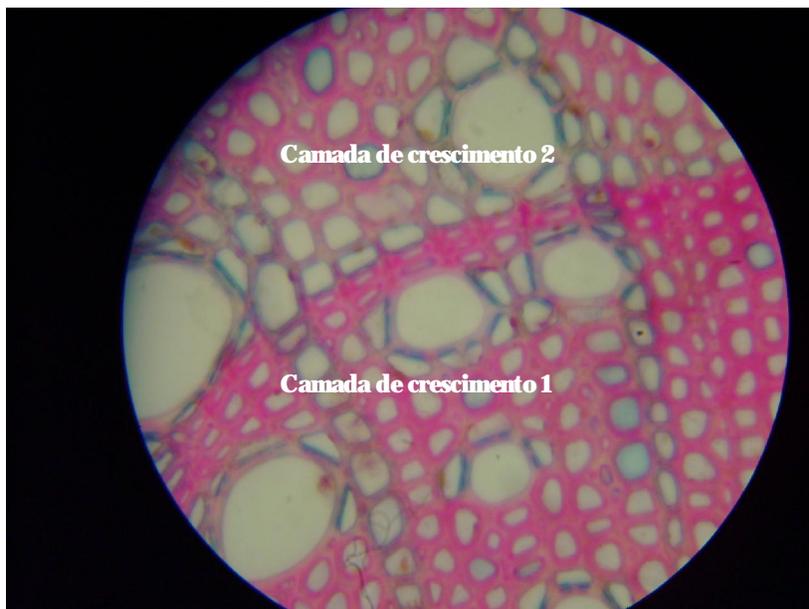


Figura 7: Corte transversal do caule (400 x). Detalhe das duas camadas de crescimento do xilema.

4.1.2. Descrição da anatomia foliar

4.1.2.1. Anatomia do pecíolo

A espécie estudada, no plano transversal, apresenta o pecíolo com o formato plano convexo ou levemente côncavo-convexo, em toda sua extensão. Duas projeções laterais são observadas na face adaxial, tornando-se mais evidentes em direção a região distal (figura 8). A epiderme é uniestratificada, contendo tricomas e dotada de cutícula delgada. (figuras 9, 10 e 11). O colênquima do tipo angular é encontrado subjacente a epiderme, em toda a extensão do pecíolo (figuras 9 e 10). O parênquima cortical apresenta células com paredes delgadas, e pequenos espaços intercelulares (figuras 9 e 10). Apresenta feixes vasculares em toda a extensão do pecíolo com um cilindro de fibras ocorrendo junto ao sistema vascular sendo que no floema, os elementos de transporte e células companheiras ocorrem em grupos externos e internos e o xilema está situado entre os elementos do floema (figuras 9 e 12). Entre o esclerênquima e o floema externo há uma faixa de células parenquimáticas (figura 12).



Figura 8: Aspecto do pecíolo(100x). De plano convexo ou levemente côncavo-convexo em toda a sua extensão e com tricomas na superfície (Tr), com duas projeções laterais na face inferior (Pr).

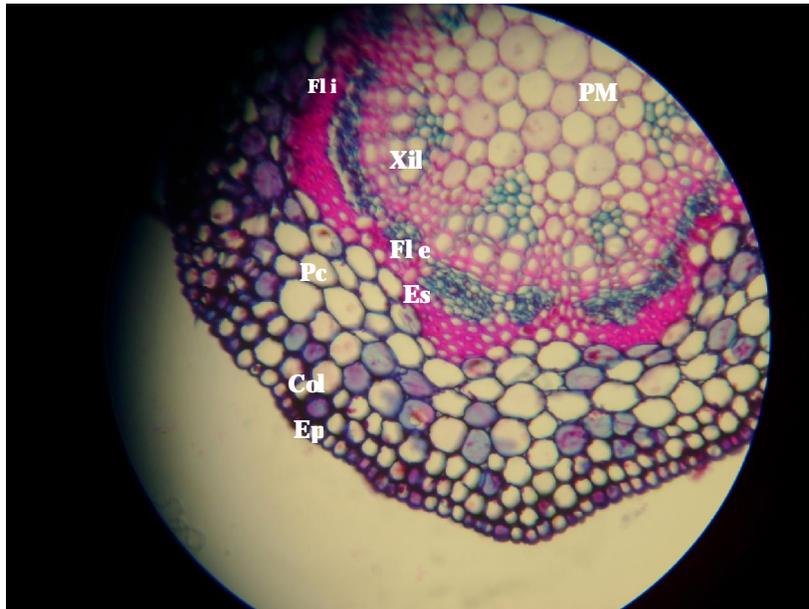


Figura 9: Corte transversal do pecíolo (100 x). Epiderme uniestratificada (Ep); colênquima angular (Col); parênquima cortical (Pc); esclerênquima (Es) formando um cilindro contínuo por sobre o floema externo (Fle); xilema (Xil); floema interno (Fli); parênquima medular (Pm).

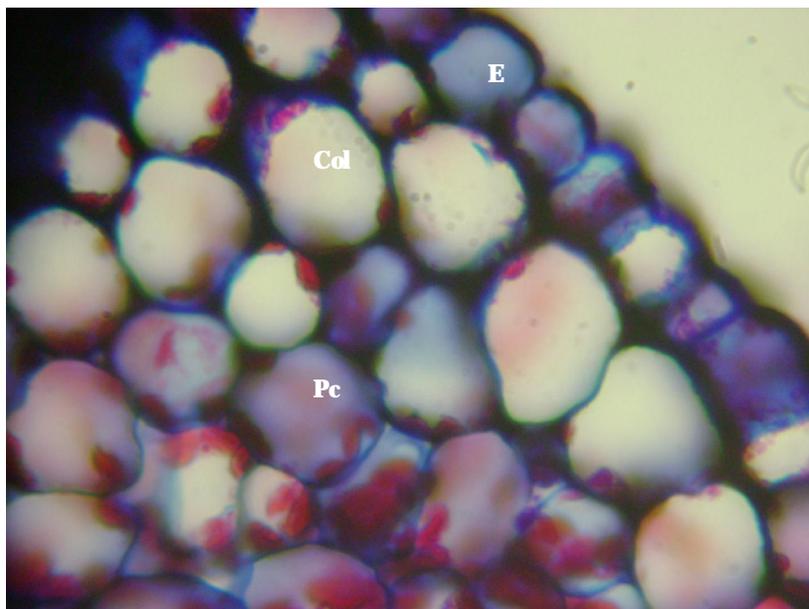


Figura 10: Corte transversal do pecíolo (400x). Detalhe: epiderme (E); colênquima angular (Col); parênquima cortical (Pc).

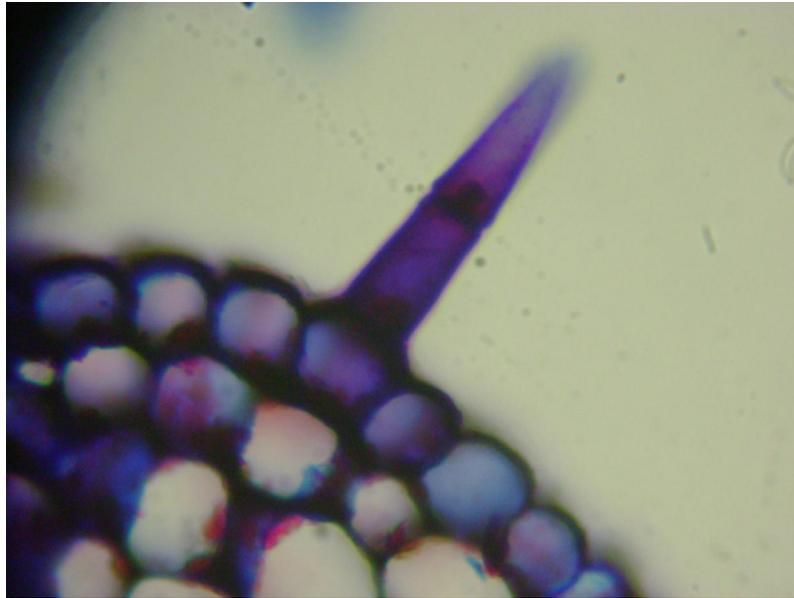


Figura 11: Corte transversal do pecíolo (400x). Detalhe do tricoma (Tr) e cutícula delgada na epiderme (E).

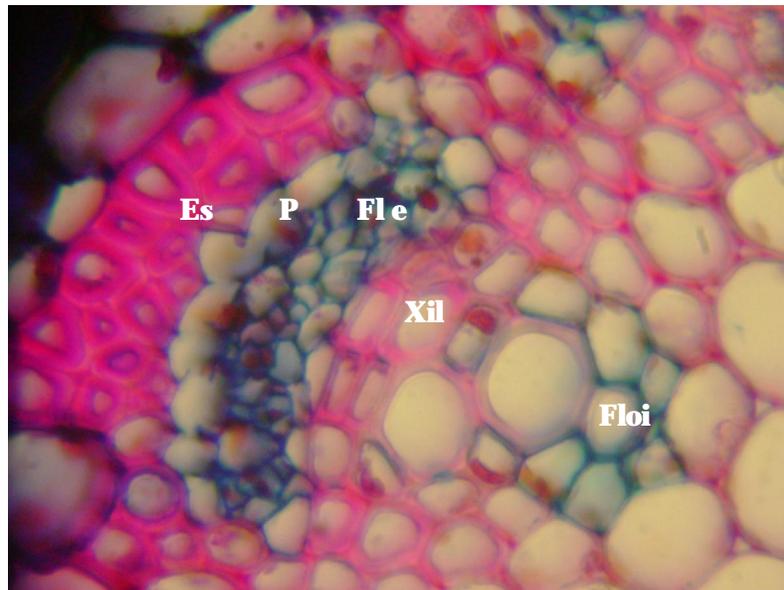


Figura 12: Corte transversal do pecíolo (400x). Detalhe do sistema vascular e esclerênquima; floema externo (Fl e); xilema (Xil); floema interno (Fli); esclerênquima (Es); células parenquimáticas (P).

4.1.2.2. Anatomia do limbo

As folhas são hipoestomáticas e dorsiventrais e o mesófilo é heterogêneo, formado por dois estratos de parênquima paliçádico abaixo da epiderme adaxial e por seis estratos de parênquima lacunoso abaixo da epiderme abaxial. O bordo apresenta-se encurvado em direção a face abaxial e é ocupado por elementos de parênquima clorofiliano (figuras 14 a 18 e 21 a 23). A nervura principal contém feixe de xilema radial, sendo que entre os vasos xilemáticos encontram-se células parenquimáticas e o floema se distribui em forma de arco voltado para a face abaxial da folha e em grupo de poucas células voltadas para a face adaxial (figura 24).

Em corte transversal, o folíolo, apresenta-se constituído por uma nervura principal e bordos laterais, revestido por uma epiderme uniestratificada com cutícula delgada. Na epiderme inferior, encontram-se tricomas simples tectores e tricomas secretores (figura 13), além de estômatos (figura 14).

No terço basal da lâmina foliar, o sistema vascular predomina na nervura principal e está formado por feixes colaterais fechados com diâmetro maior do que nas nervuras laterais, onde se encontram a nível de todo o parênquima clorofiliano. As células do xilema distribuem-se radialmente e as do floema, em polos do xilema, sendo que o polo próximo à face adaxial é formado por menor número de elementos constituintes do que o pólo próximo à face abaxial, no qual as células dispõem-se na forma de um arco. Em torno dos tecidos condutores, encontra-se uma bainha de esclerênquima, caracterizando um feixe fechado. Envolvendo a bainha esclerenquimática, há um parênquima fundamental. Há estômatos presentes na epiderme inferior, estando as câmaras subestomáticas bem diferenciadas no parênquima lacunoso (figura 14). Subjacente às epidermes, o colênquima angular está formado por dois estratos celulares que acompanham toda a base da nervura, enquanto que na face superior, apenas duas faixas de 10 células colenquimáticas estão presentes. O parênquima paliçádico penetra na face superior da nervura. As células epidérmicas têm a forma esférica na face inferior e retangulares na face superior. A cutícula é delgada (figura 16).

Ao longo do terço mediano, nos bordos laterais, encontram-se as nervuras laterais ao nível do parênquima lacunoso (figura 17) e nestas, há feixes colaterais fechados, constituídos por xilema organizado na forma radial e floema constituído por agrupamento de elementos de tubos crivados e células companheiras. No pólo inferior do feixe, a bainha esclerenquimática encontra-se como calota de fibras e no pólo superior, as fibras estão em feixes (8 fibras) estreitando-se em direção à face adaxial, sendo que os espaços existentes entre os elementos vasculares xilemáticos e os elementos vasculares floemáticos são preenchidos por células parenquimáticas, as quais também formam uma bainha em torno dos elementos vasculares. Na porção superior de cada nervura lateral encontram-se quatro células de colênquima angular subepidérmico, cujas paredes são mais espessadas nos ângulos (figuras 18 e 20). Na porção inferior da nervura principal, o colênquima angular é biestratificado, situado acima da epiderme inferior e acima dele há 3 estratos de células parenquimáticas, sobre os quais, encontram-se as calotas de fibras da bainha esclerenquimática (figura 19). O mesófilo é dorsiventral (figura 21).

Na região apical, o limbo foliar apresenta o mesmo padrão anatômico da região basal, tanto na região da nervura principal, quanto nos bordos laterais (figuras 22 e 23).

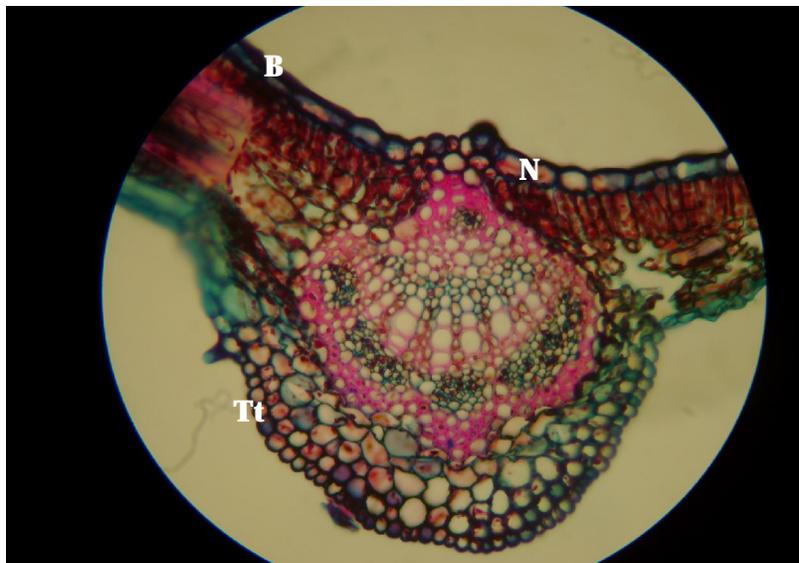


Figura 13: Aspecto geral da região mediana da folha em corte transversal (100x). Nervura principal (N) e bordos laterais (B) em cuja epiderme inferior encontram-se os tricomas secretores (Ts) e tectores (Tt).



Figura 14: Corte transversal da região basal do limbo foliar (400x). Tricoma secretor (Trs); estômatos (es); nervura lateral (NI); sistema vascular (Sv) e câmara subestomática (Csub).

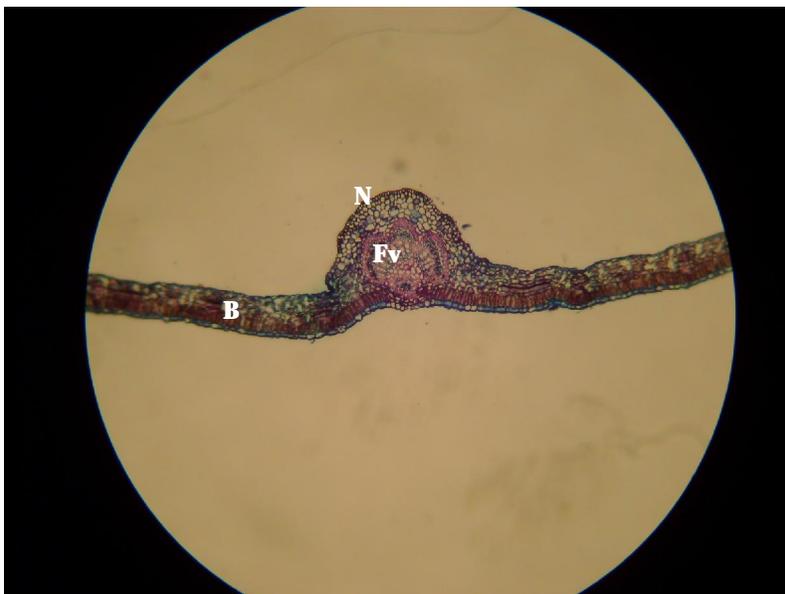


Figura 15: Corte transversal da região basal do limbo foliar (100x). Nervura principal (N); bordos laterais (B); feixe vascular (Fv).

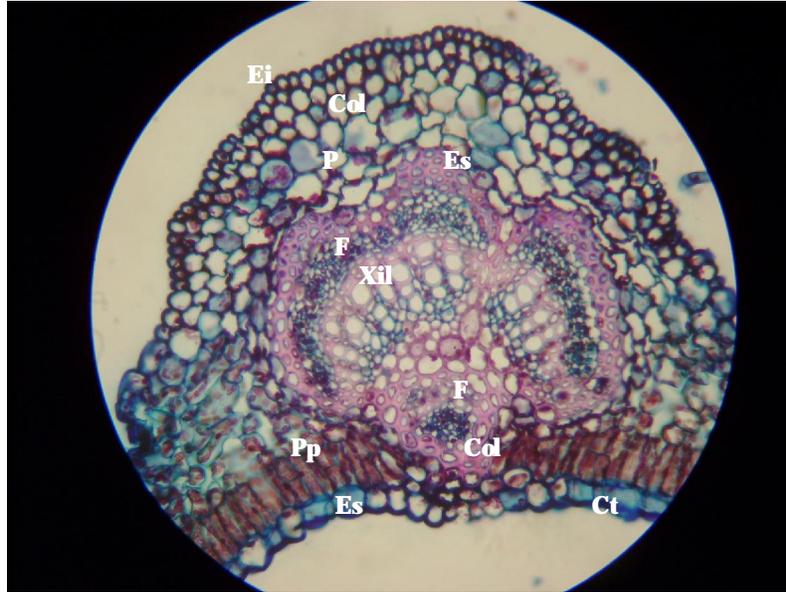


Figura 16: Corte transversal do limbo da regial basal (400x). Epiderme superior (Es); epiderme inferior (Ei); colênquima angular (Col); parênquima fundamental (P); esclerênquima (Es); floema (F); xilema (Xil); parênquima paliçádico (Pq) e cutícula (Ct).

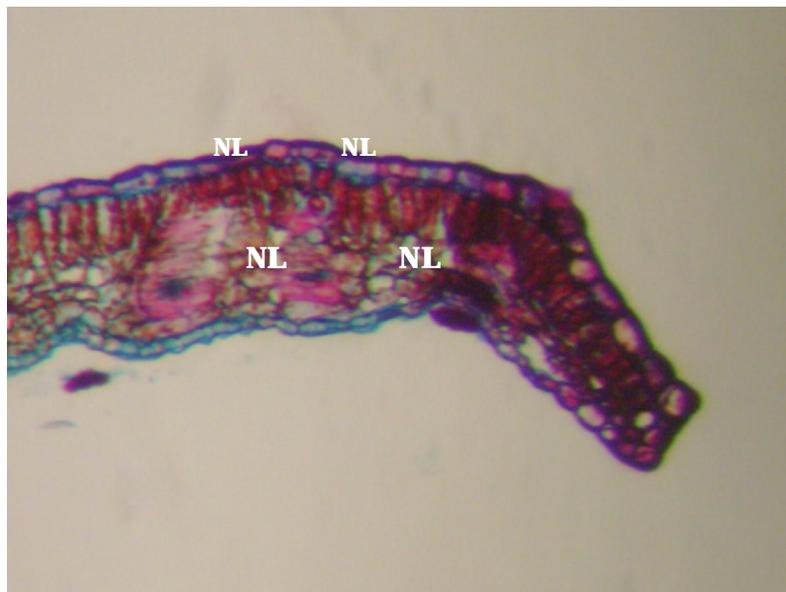


Figura 17: Corte transversal do bordo lateral da região mediana da folha (100x), evidenciando a nervuras laterais (NL) presentes ao nível do parênquima lacunoso.

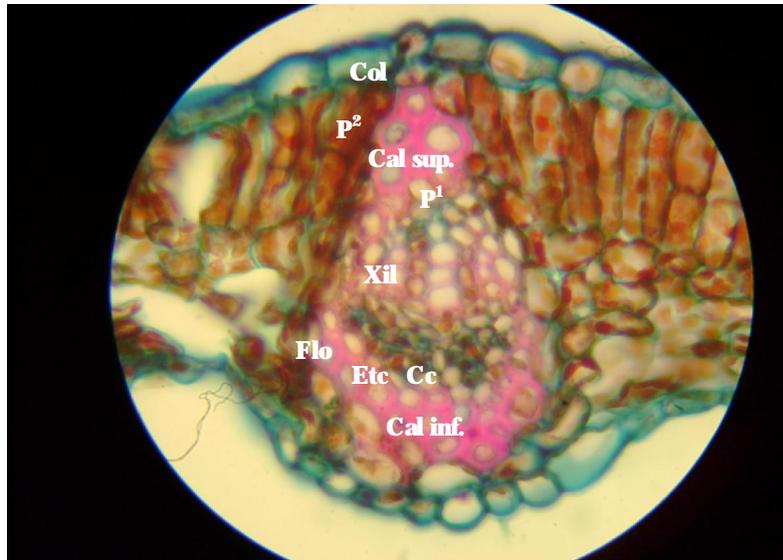


Figura 18: Detalhe da nervura lateral da região mediana (100x). Feixe colateral fechado, constituído por xilema (Xil), organizado na forma radial e floema (Flo) constituído por agrupamento de elementos de tubos crivados (Etc) e células companheiras (C c). Ns pólos do feixe, a bainha esclerenquimática encontra-se como calotas de fibras, sendo que a calota inferior tem a forma de meia lua (Cal inf.) e a superior afunila-se entre duas células de colênquima (Col) e é formada por um feixe de 8 fibras. Os espaços existentes entre os elementos vasculares xilemáticos e os elementos vasculares floemáticos são preenchidos por células parenquimáticas (P¹), as quais também formam uma bainha em torno dos elementos vasculares (P²).

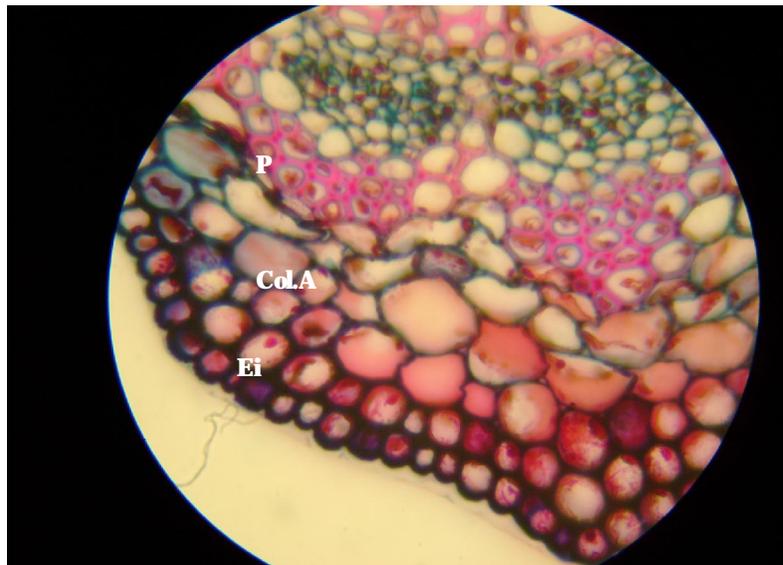


Figura 19: Detalhe da parte inferior da nervura principal da região mediana da folha em corte transversal (aumento 100vezes). Acima da epiderme inferior (Ei), identifica-se um colênquima anelar uniestratificado (Col. A) e acima dele há 4 estratos de células parenquimáticas (P), sobre os quais, evidencia-se a calota inferior de fibras da bainha esclerenquimática.

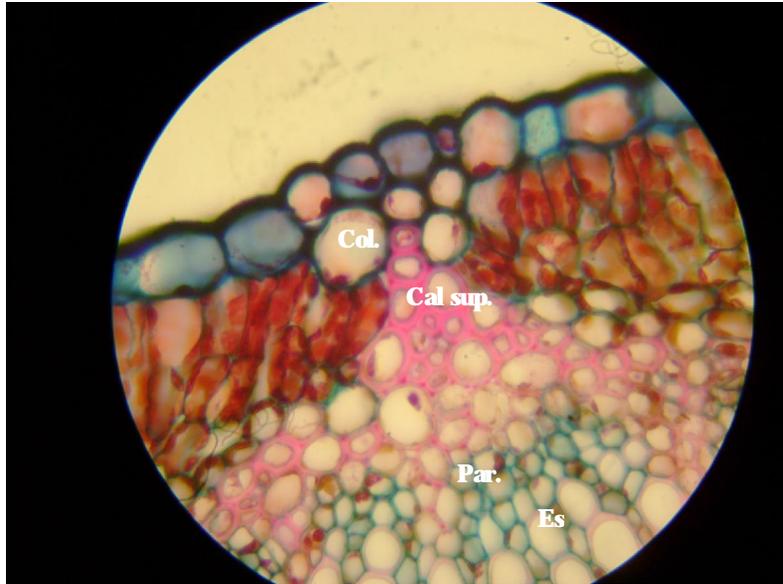


Figura 20: Detalhe de parte superior da nervura lateral na região mediana da folha em corte transversal (100 x). Aspecto apresentado pelas células do colênquima angular (Col) subepidêmico, cujas paredes são mais espessadas nos ângulos e do esclerênquima representado pelas fibras de paredes espessadas e esclerificadas (Cal sup.) e das células parenquimáticas (Par.) e estruturas secretoras (E s) constituintes do xilema.

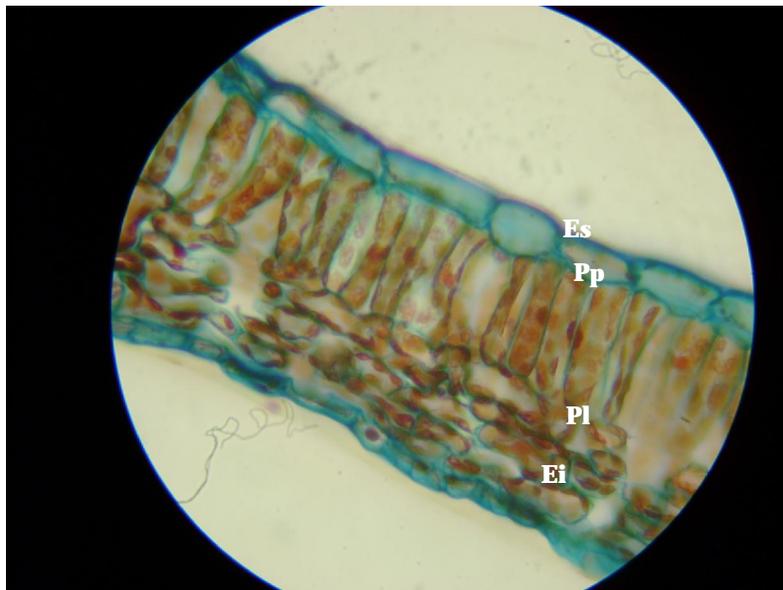


Figura 21: Detalhe dos bordos laterais (aumento 100 vezes). Mesófilo dorsiventral ou bifacial, formado pelo parênquima paliçádico uniestratificado (Pp) e parênquima lacunoso (Pl), envolvidos por epidermes uniestratificadas e com cutícula delgada (Cut), estando o parênquima paliçádico abaixo da epiderme superior (Es) e o parênquima lacunoso acima da epiderme inferior (Pl).

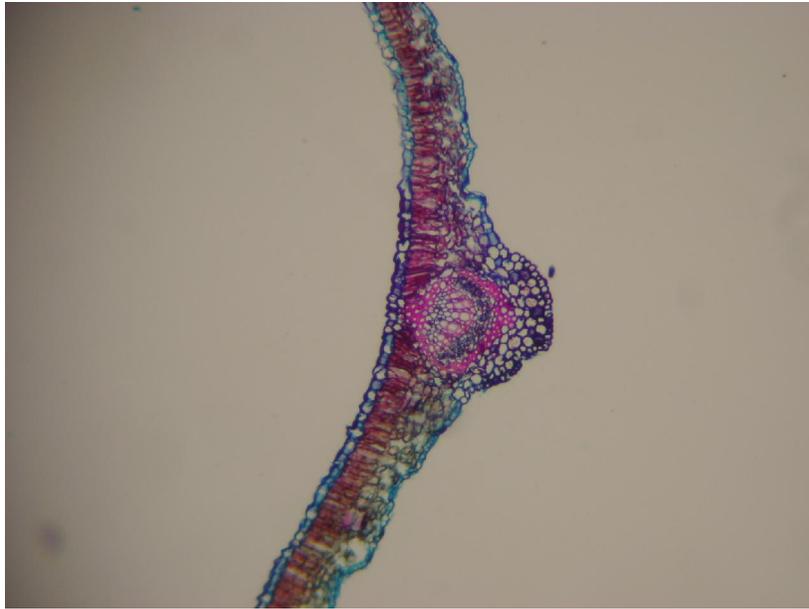


Figura 22: Mesófilo da região apical da folha em corte transversal (aumento 100 vezes).

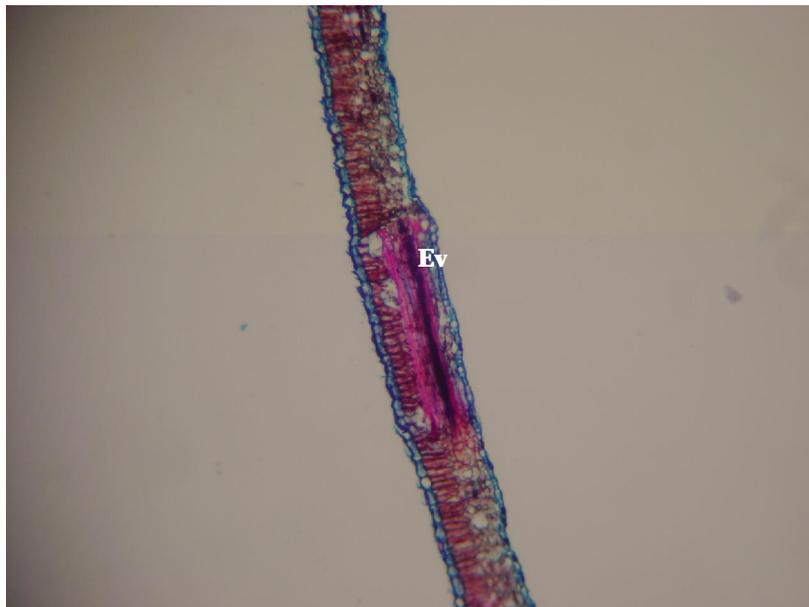


Figura 23: Mesófilo região apical (aumento 100 vezes). Elementos vasculares dispostos em corte longitudinal (E v).

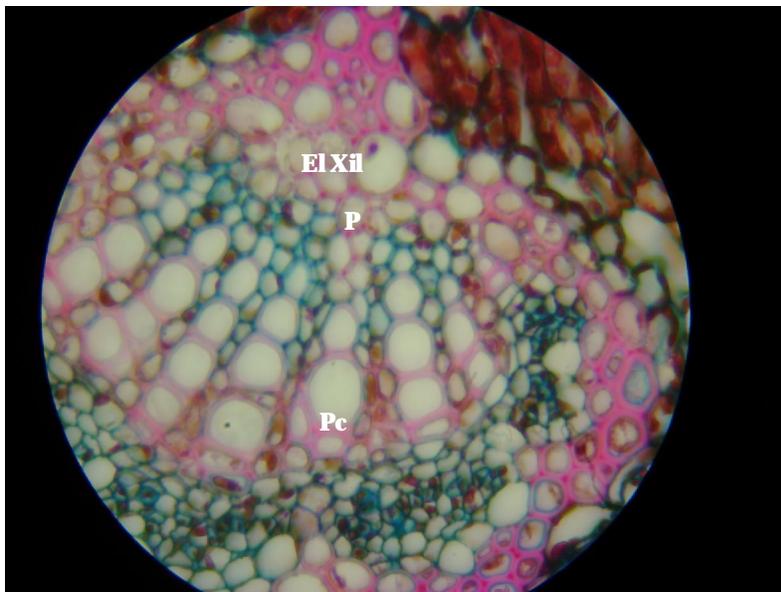


Figura 24: Detalhe da nervura principal enfocando a diferença entre xilema e floema (100X). Aspecto citológico das células xilemáticas e floemáticas. Os elementos radiais de vasos do xilema estão com suas paredes espessadas e esclerificadas (El Xi), e são separados entre si, por parenquimáticas (P), enquanto que os elementos de tubos crivados do floema destacam-se com a presença das placas crivadas (Pc) e suas células companheiras. Ambos têm paredes delgadas.

4.2. Caracterização química e físico-química do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.2.1. Determinação da distribuição granulométrica do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Na análise granulométrica observou-se que menos de 40% das partículas do pó passou pelo tamis com abertura nominal de malha de 355 μm , o que caracteriza o pó como pó grosso segundo a FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV (1988), (figura 25).

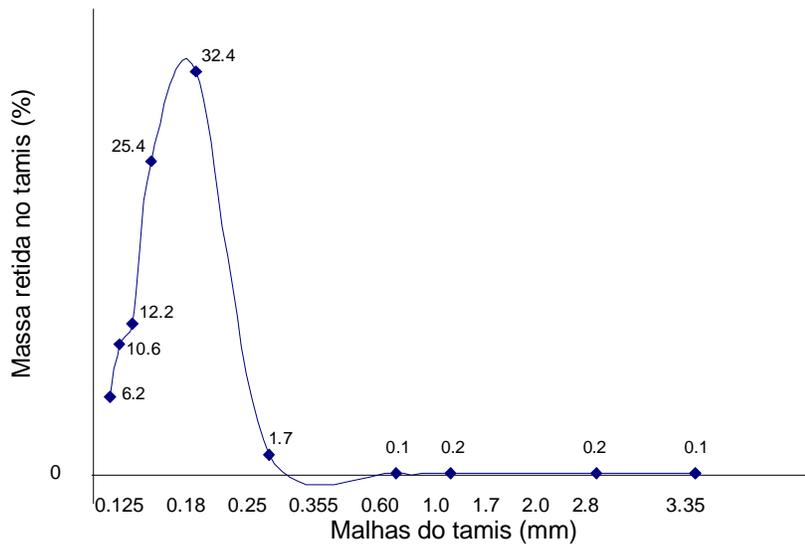


Figura 25: Distribuição granulométrica do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.2.2. Determinação de perda por dessecação e do teor de cinzas totais do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Tabela 2: Perda por dessecação e do teor de cinzas totais do pó da matéria prima vegetal.

Testes		Determinações (%)
Perda por dessecação	3	9,18 ± 0,118
Teor de cinzas totais	3	6,07 ± 0,463

4.2.3. Espectroscopia na região do infravermelho do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Na análise do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por espectroscopia na região do infravermelho, que foi realizada com o objetivo de inferir informações preliminares sobre os constituintes químicos da planta, observou-se bandas de absorção em 1611 cm^{-1} , 1515 cm^{-1} , 1425 cm^{-1} e 1726 cm^{-1} . Observou-se ainda uma forte absorção em 3396 cm^{-1} (figura 26).

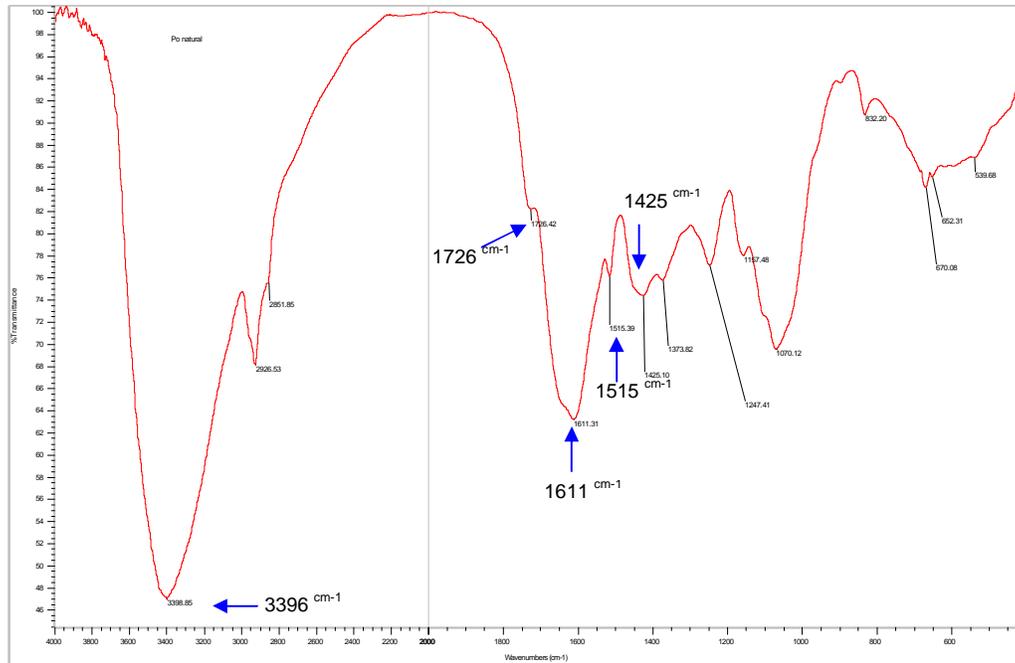


Figura 26: Espectro na região do infravermelho do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.2.4. Perfil térmico do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.2.4.1. Termogravimetria (TG) do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A figura 27 mostra as curvas termograviétricas (TG) do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., onde se observa que houve perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C houve uma perda de massa de 8,0 %. Observando-se que desta temperatura de 110°C até aproximadamente 200°C

o material se mantém estável, com perda de massa de 3,5%. Na faixa de temperatura de 200°C a 300°C houve uma perda de massa de 17,6% e de 300°C até 600°C houve uma perda de massa de 47,4%. Havendo uma perda total de massa de 76,24% na faixa de temperatura analisada, de 25°C a 600°C, com resíduo de 23,76% (tabela 3).

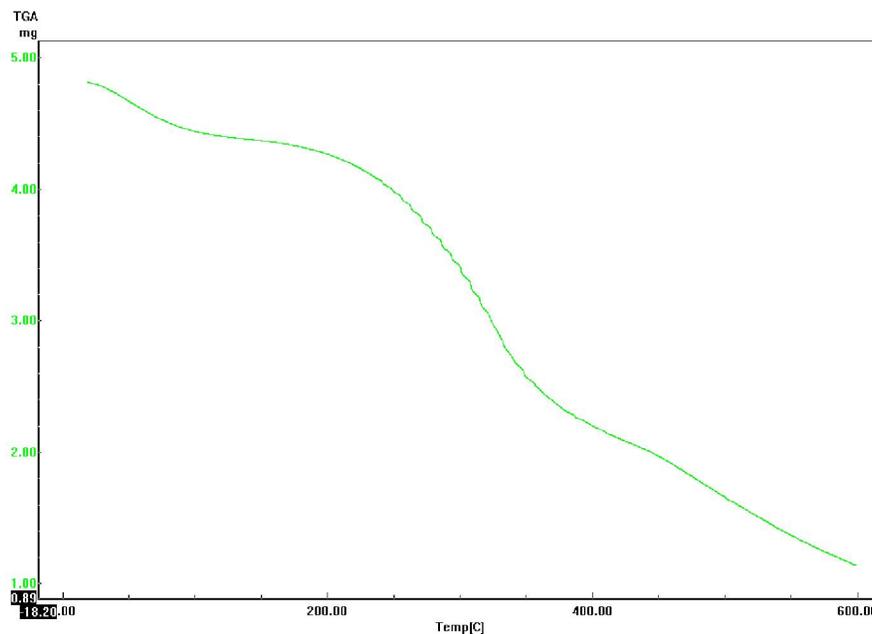


Figura 27: Curva termogravimétrica (TG), do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Tabela 3: Perda de massa do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., realizados por Termogravimetria (TG)

Amostra	Temperatura (°C)				Resíduo (%)
	25 a 110	110 a 200	200 a 300	300 a 600	
	Perda de massa (%)				
Pó da planta	8,0	3,5	17,6	47,4	76,24
					23,76

4.2.4.2. Análise térmica diferencial (DTA) do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Na curva termogravimétrica diferencial (DTA) do pó da planta (figura 28), observa-se que não ocorreram efeitos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresentando variação de temperatura de 163,32 J/g nesta faixa de temperatura, observando-se pequenos picos ascendentes e descendentes a partir de 220°C, com evento endotérmico acentuado a partir de 340°C até 600°C (tabela4).

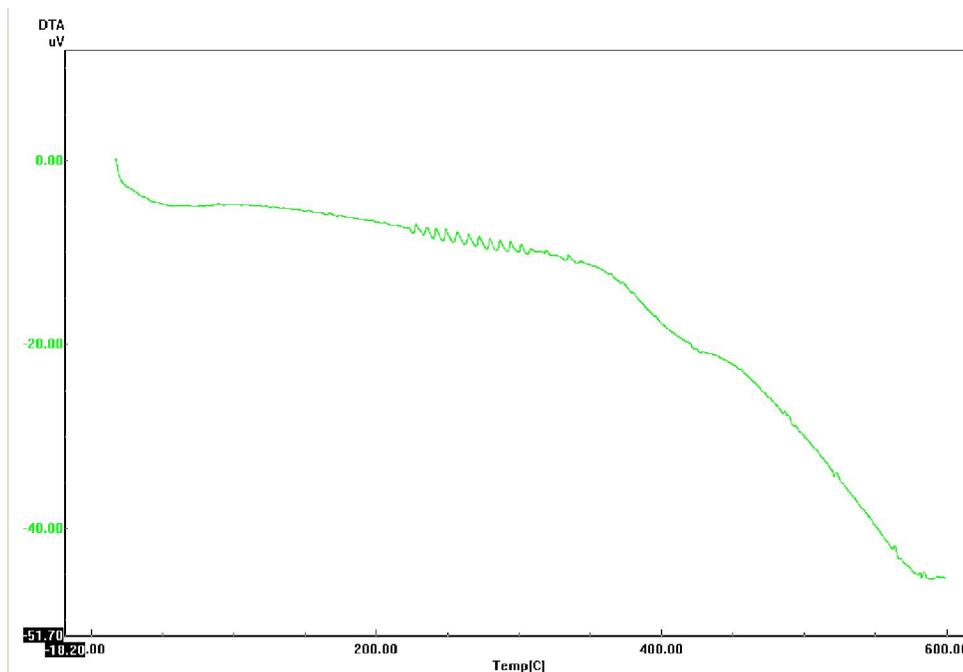


Figura 28: Curva DTA do pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Tabela 4: Variações de temperaturas apresentadas pelo pó das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., em diferentes faixas de temperaturas, analisadas por análise térmica diferencial (DTA).

Amostra	Temperatura (°C)			
	25 a 110	110 a 200	200 a 300	25 a 600
	Variação de temperatura (J/g)			
Pó da planta	163,32	31,45	20,05	12,66 KJ/g

4.3. Caracterização química e físico-química da solução extrativa de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.3.1. Determinação do pH, densidade aparente e teor de sólidos da solução extrativa de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

As determinações de pH, densidade aparente e teor de sólidos da solução extrativa de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. estão descritas na tabela 5.

Tabela 5: Determinações de pH, densidade aparente e teor de sólidos da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Testes		determinações (%)
pH	3	5,50 ± 0,0318
Densidade aparente	3	0,89110 ± 0,00020
Teor de sólido	3	2,60 ± 0,01320

4.3.2. Espectroscopia na região do infravermelho do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A análise do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por infravermelho (figura 29), foi realizada com o objetivo de inferir informações preliminares sobre os constituintes químicos da planta onde observou-se bandas de absorção em 1609 cm^{-1} , 1512 cm^{-1} , 1458 cm^{-1} e 1723 cm^{-1} . Observou-se ainda uma forte absorção em 3376 cm^{-1} característica de -OH presente em muitos constituintes da tintura (tabela 6).

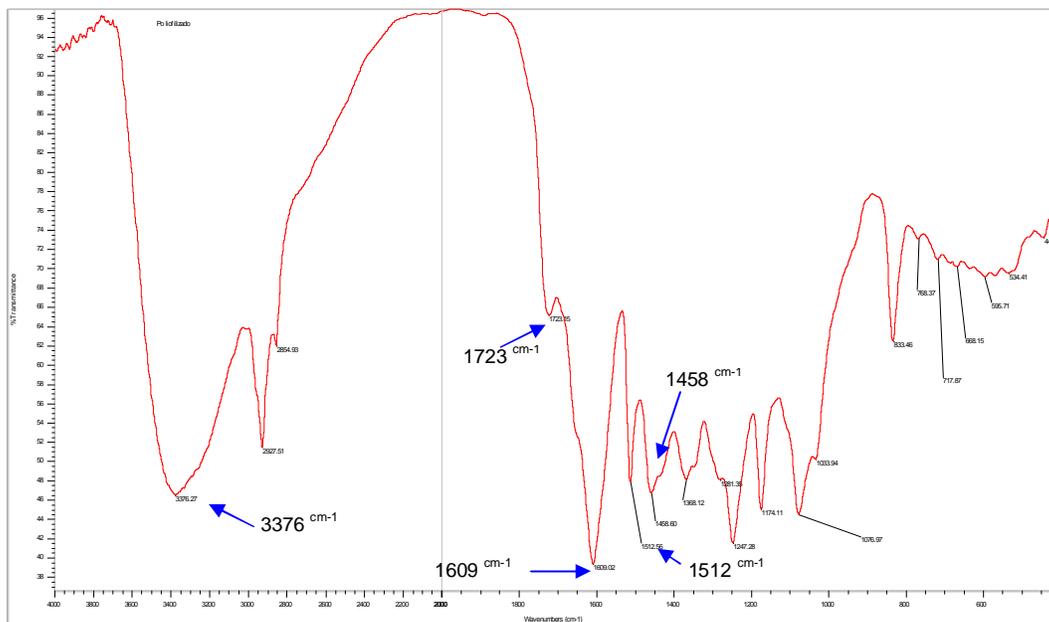


Figura 29: Espectro na região do infravermelho do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vertt.

Tabela 6: Absorções das ligações das moléculas do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vertt.

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
3376	- OH
1723	C = O
1609	C = C conjugado com C = O
1512, 1452	C = C aromático
1458	C - H
1247	C - O - C

4.3.3. Perfil térmico do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

4.3.3.1. Termogravimetria (TG) do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Na figura 30 observa-se a curva termogravimétrica (TG) obtida para o extrato liofilizado, onde se observa perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C, houve uma perda de massa de 3,0%. Havendo uma perda total de massa de 62,28% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, com resíduo de 37,72% (tabela 7).

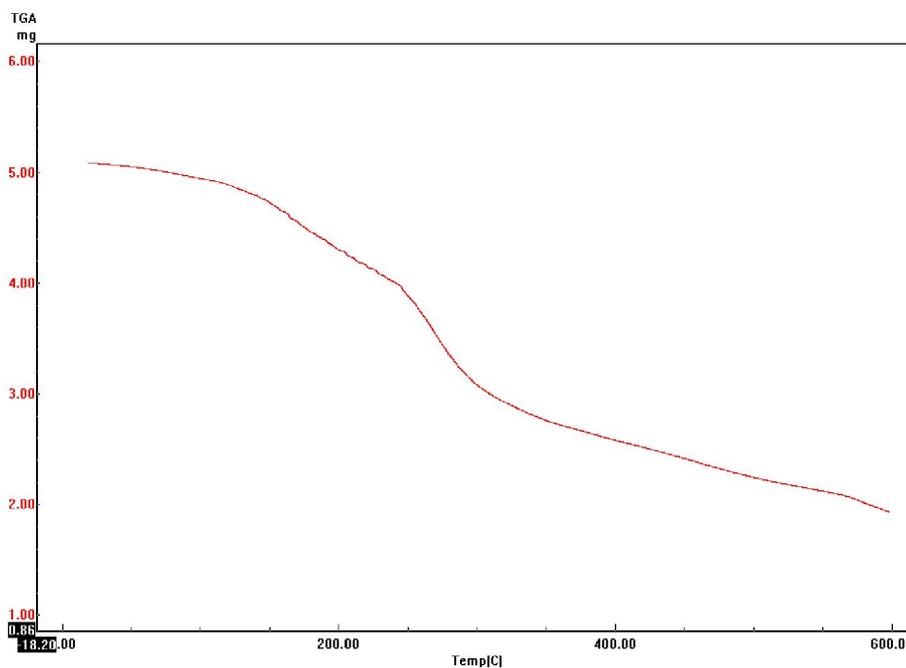


Figura 30: Curva TG do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Tabela 7: Perda de massa do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vert. com suas respectivas perdas de massa, realizados por Termogravimetria (TG).

Amostra	Temperatura (°C)				Resíduo (%)
	25 a 110	105 a 200	200 a 300	300 a 600	
Perda de massa (%)					
Extrato liofilizado	3,0	12	24	22,7	62,28

4.3.3.2. Análise térmica diferencial (DTA) do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vert.

Na curva termogravimétrica diferencial (DTA) do extrato liofilizado (figura 31), observa-se que não ocorreram efeitos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C até 110°C, apresentando variação de temperatura de 13,96 J/g (tabela 8), observando-se pequenos picos ascendentes e descendentes a partir de 158°C, com evento endotérmico sendo acentuado a partir de 260°C de forma constante e gradativa até 600°C.

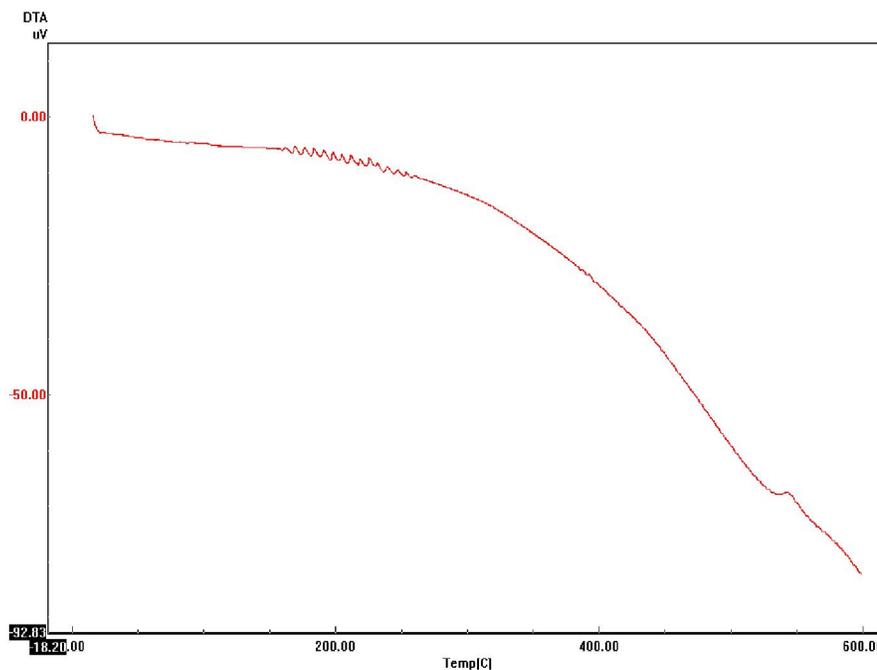


Figura 31: Curva DTA do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vert.

Tabela 8: Variações de temperaturas do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., em diferentes faixas de temperatura, analisadas por análise térmica diferencial (DTA).

Amostra	Temperatura (°C)			
	25 a 110	110 a 200	200 a 300	25 a 600
	Variação de temperatura (J/g)			
Extrato liofilizado	13,96	123,15	108,88	22,43 KJ/g

5. Abordagem fitoquímica do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

5.1. Prospecção química do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

A determinação de constituintes relevantes para a identificação de drogas vegetais faz parte do protocolo de avaliação da qualidade da matéria-prima empregada. O perfil químico indicou a presença de classes químicas, tais como: açúcar redutor, antocianinas, antraquinonas, esteróides, triterpenóides, fenóis, flavanonas, flavanonois, saponinas, taninos catéquicos e indicativos para flavonois. (tabela 9).

Tabela 9: Prospecção química do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Metabólitos secundários	Resultado
Açúcar redutor	+
Alcalóides	+
Antocianidinas	+
Antocianinas	+
Antraquinonas	+
Catequinas	-
Cumarinas	-
Depsídeo e depsidona	-
Esteróides e triterpenóides	+
Fenóis	+
Flavanonois	+
Flavonóis	indicativo
Flavanonas	+
Glicosídeo cardíaco	-
Leucoantocianidinas	-
Polissacarídeo	-
Proteínas e aminoácidos	-
Purinas	-
Sesquiterpenolactonas e outras lactonas	-
Saponinas	+
Taninos catéquicos	+
Xantonas	-

5.2. Perfil cromatográfico do extrato seco de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por cromatografia em camada delgada (CCD)

5.2.1. Partição líquido-líquido

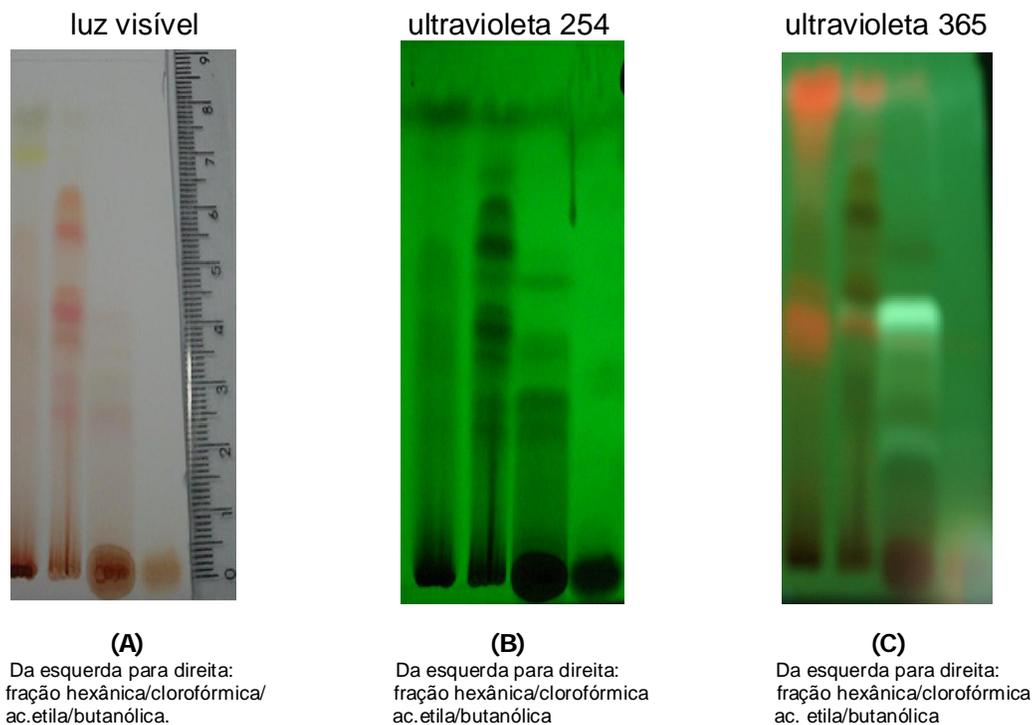


Figura 32: Fotografias das placas de CCD do extrato hidroalcoólico de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. que passou por partição líquido-líquido.

O extrato hidroalcoólico que passou por partição líquido-líquido com os solventes obteve frações correspondentes aos solventes, (tabela 10), (figura 32).

Tabela 10: Análise cromatográfica das frações hexânica, clorofórmica, acetato de etila e butanólica do extrato de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Frações	Eluente	Luz visível	254nm	365nm	Revelador anisaldeído
Fração hexânica	CHCL ₃ /MeOH (90 : 10)	Rf ₁ 0,41	Rf ₁ 0,40	Rf ₁ 0,38	Rf ₁ 0,31
		Rf ₂ 0,44	Rf ₂ 0,45	Rf ₂ 0,45	Rf ₂ 0,43
		Rf ₃ 0,74	Rf ₃ 0,74	Rf ₃ 0,58	Rf ₃ 0,58
				Rf ₄ 0,74	Rf ₄ 0,62
					Rf ₅ 0,73
					Rf ₆ 0,78
Fração clorofórmica	CHCL ₃ /MeOH (90 : 10)	Rf ₁ 0,26	Rf ₁ 0,32	Rf ₁ 0,41	Rf ₁ 0,16
		Rf ₂ 0,32	Rf ₂ 0,41	Rf ₂ 0,46	Rf ₂ 0,28
		Rf ₃ 0,40	Rf ₃ 0,44	Rf ₃ 0,60	Rf ₃ 0,41
		Rf ₄ 0,45	Rf ₄ 0,48		Rf ₄ 0,45
		Rf ₅ 0,45	Rf ₅ 0,54		Rf ₅ 0,48
		Rf ₆ 0,60	Rf ₆ 0,61		Rf ₆ 0,54
		Rf ₇ 0,65	Rf ₇ 0,74		Rf ₇ 0,60
					Rf ₈ 0,66
Fração acetato de etila	CHCL ₃ /MeOH (90 : 10)	Rf ₁ 0,26	Rf ₁ 0,16	Rf ₁ 0,21	Rf ₁ 0,34
		Rf ₂ 0,32	Rf ₂ 0,26	Rf ₂ 0,31	Rf ₂ 0,42
		Rf ₃ 0,36	Rf ₃ 0,32	Rf ₃ 0,37	Rf ₃ 0,54
		Rf ₄ 0,44	Rf ₄ 0,42	Rf ₄ 0,53	
			Rf ₅ 0,52		
Fração butanólica	CHCL ₃ /MeOH (90 : 10)				Rf ₁ 0,12
					Rf ₂ 0,24

A determinação do perfil cromatográfico visa caracterizar a composição do extrato.

Das várias combinações de solventes possíveis, os eluentes compostos por clorofórmio/metanol/água (65:30:5) e hexano/acetato de etila (80:20), obtiveram melhores resultados. (tabela 11 e figuras 33 e 34).

Tabela 11: Cromatografia em camada delgada (CCD), sistema clorofórmio/metanol/água e hexano/acetato de etila. Fator de retenção (Rf).

	Eluente	Luz visível	254nm	365nm	Revelador Anisaldeído	Revelador Cloreto Férrico
Sistema I	CHCl ₃ /MeOH/H ₂ O (65:30:5)	Rf ₁ 0,57	Rf ₁ 0,57	Rf ₁ 0,60	Rf ₁ 0,57	Rf ₁ 0,60
		Rf ₂ 0,73	Rf ₂ 0,73	Rf ₂ 0,73	Rf ₂ 0,76	Rf ₂ 0,70
		Rf ₃ 0,85	Rf ₃ 0,85	Rf ₃ 0,85	Rf ₃ 0,88	Rf ₃ 0,82
		Rf ₄ 0,97			Rf ₄ 0,96	
		Rf ₅ 0,97				
Sistema II	Hex / Ac. et. (80:20)	Rf ₁ 0,14	Rf ₁ 0,074		Rf ₁ 0,46	Rf ₁ 0,19
		Rf ₂ 0,20	Rf ₂ 0,16		Rf ₂ 0,58	Rf ₂ 0,28
		Rf ₃ 0,29	Rf ₃ 0,25			

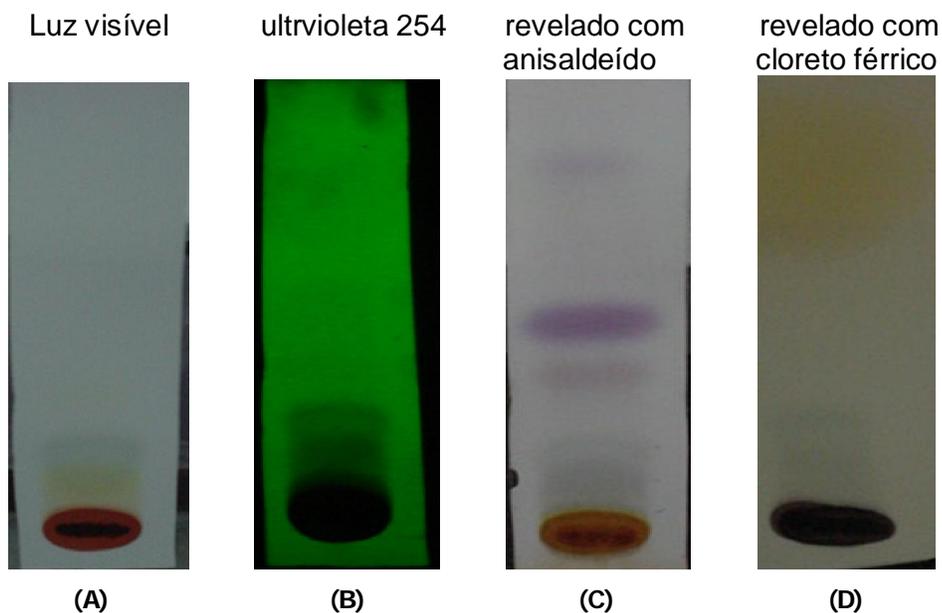


Figura 33: Fotografias de placas de CCD do extrato de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. com o eluente Hexano/Ac.de etila. (80:20).

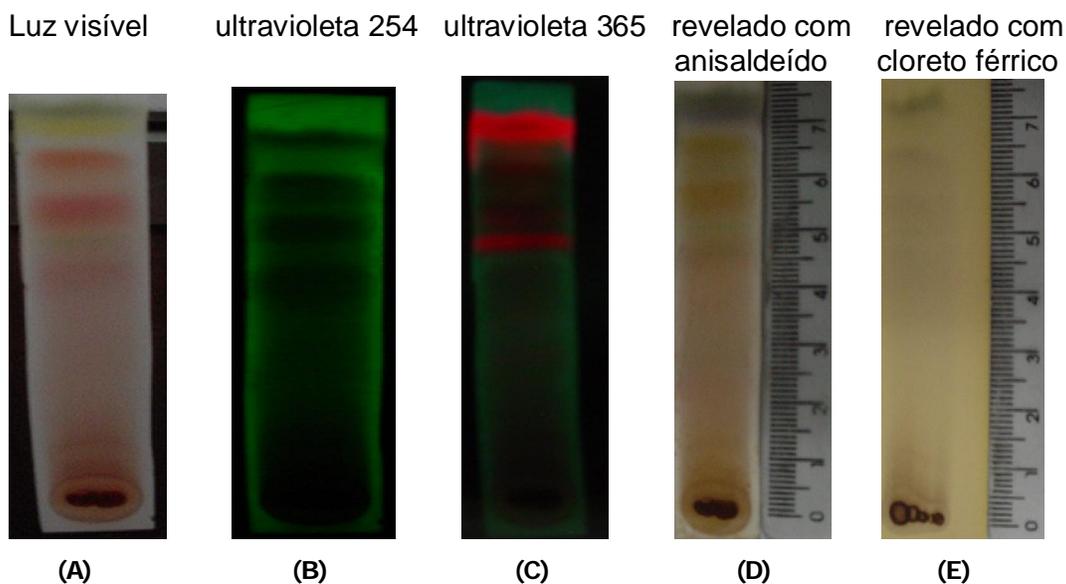


Figura 34: Fotografias de placas de CCD com eluente $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{H}_2\text{O}$ (65:30:5).

5.3. Perfil cromatográfico da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A análise da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por cromatografia líquida de alta eficiência forneceu cromatogramas nos comprimentos de ondas 254, 330, 350 e 354 nm. Em todos os cromatogramas pode-se observar pico com os seguintes tempos de retenção: 8.91, 13.57, 34.40 e 35.79 (tabela 12). As análises dos espectros correspondentes aos picos mencionados indicam tratar-se de substâncias flavanoidicas (figura 36), as quais apresentam duas bandas características: banda I, com máximo de absorvância em torno de 270 nm e a banda II com máximo de absorvância em torno de 330 nm, admitindo-se variações de acordo com o tipo de flavonoide (figuras 36 a 37 e tabelas 12 e 13).

A tabela 12 mostra o tempo de retenção e os máximos de absorção correspondentes.

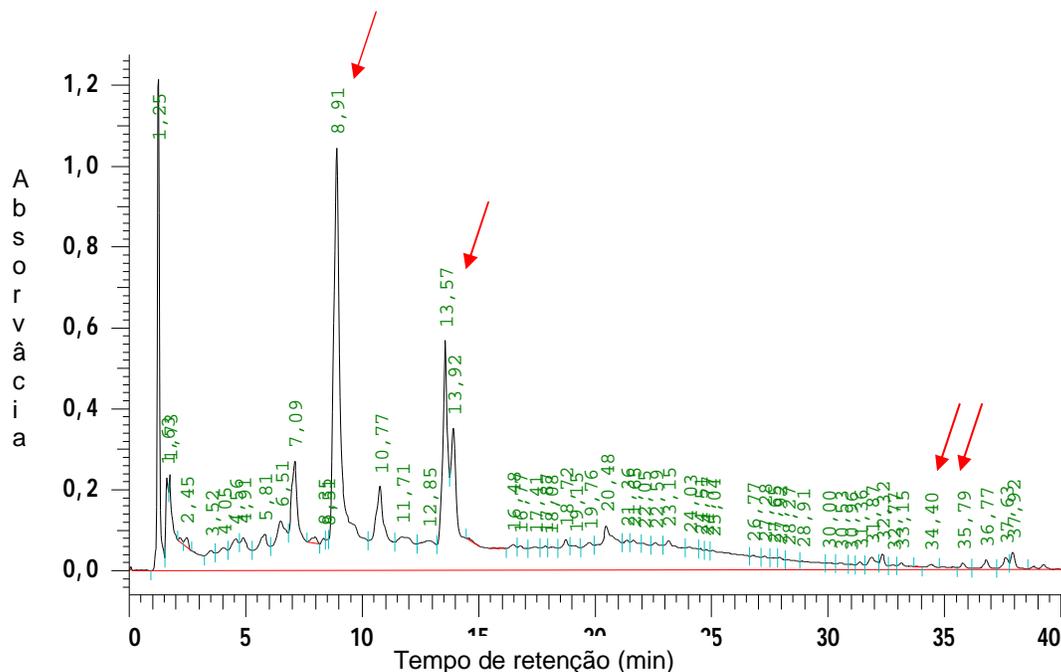


Figura 35: Cromatograma (254 nm) da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por cromatografia líquida de alta eficiência.

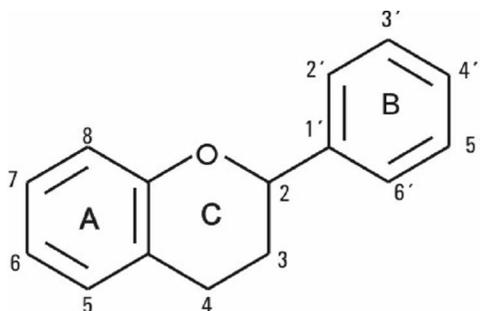


Figura 36: Estrutura molecular característica de flavonoides.

Tabela 12: Tempo de retenção e os máximos de absorção correspondentes

<u>Tempo de retenção</u> (Rt)	<u>Máximos de absorção</u>	
	máx. I	máx. II
8.91	283	336
13.57	267	334
34.40	282	434
35.79	281	409

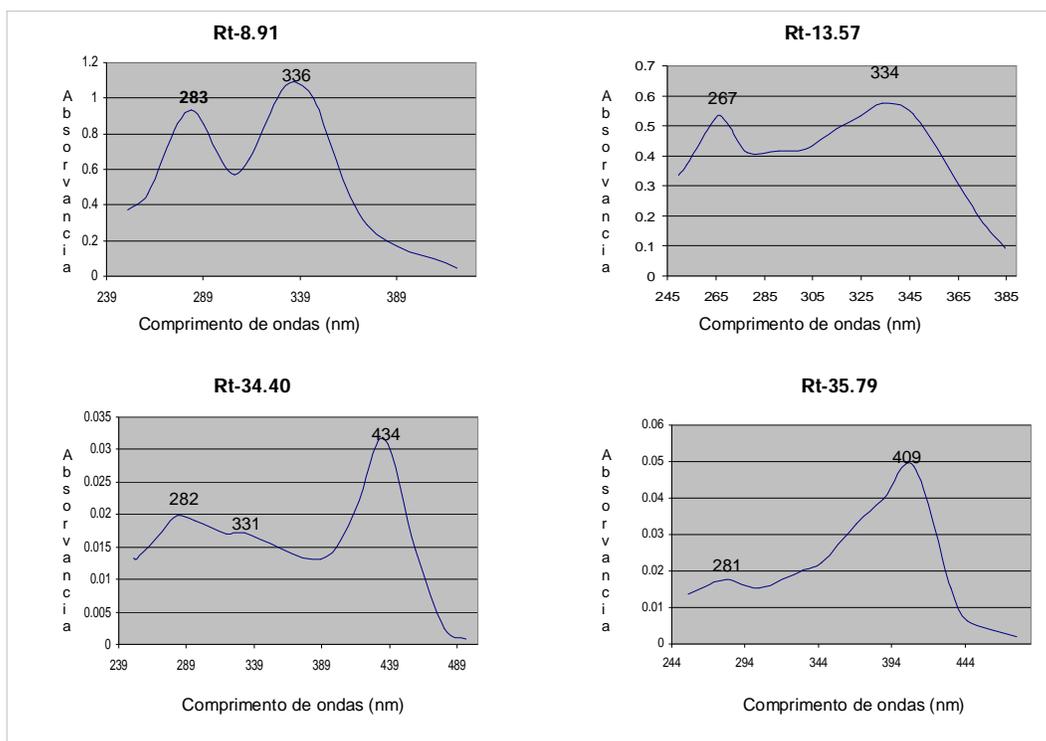


Figura 37: Espectros de absorção no ultravioleta correspondentes aos picos Rt-8.91, Rt-13.57, Rt-34.40 e Rt-35.79 (eluente: ACN : H₂O pH₃ (H₃PO₄ conc. 85%).

Tabela 13: Sinais cromatográficos da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Sinal	Tintura				Tempo de retenção (min)				Comprimento de onda (nm)	Prováveis substâncias
					Fração Metanólica	Fração Acetato de etila	Fração clorofórmica	Fração hexânica		
					Cromatograma (nm)					
	254	330	350	400	330	254	330	254	Comprimento de onda (nm)	
01	*7.12	7.09	7.09						276	
02		8.35								
03		8.69								
04	8.91	8.91	8.91	8.91					283	Flavononas e Flavanonóis
05	10.77	10.77	10.77						276	
06					11.07					
07					11.63					
08						12.21				
09					12.64					
10						13.09				
11	13.57	13.57	13.57						334	Flavonas e Biflavonóis
12					13.79					
13	13.92	13.92	13.92						331	
14					15.09					
15					15.23					
16							15.25			
17					15.47					
18							15.65			
19					15.95					
20					17.44					
21						18.24				
22					18.53					
23					18.80					
24							19.47			
25							19.84			
26						20.40				
27						20.85				
28					21.40					
29								21.68		
30					21.76					
31						22.45				
32						22.91				
33					23.25					
34								23.92		
35						24.61				
36					24.85	25.20				
37						25.81				
38					26.00					
39							26.29			
40						26.35				
41					26.64					
42						27.55				
43					27.79					
44					28.00					
45						28.11				
46						28.59				
47						29.31				
48						30.69				
49	32.05	32.05	32.05	*32.09					287	
50										
51	32.75	*32.77	*32.77	*32.77					280	
52										
53	33.12	*33.15	*33.15	*33.15					283	
54										
55					33.63					
56	34.40	34.40	34.40	34.40					283	Flavononas e Flavanonóis
57										
58	35.79	*35.74	35.79	35.79					281	Flavononas e Flavanonóis
59				36.77						
60								36.85		
61	37.63	37.63	37.63	37.63					292	
62	37.92	37.92	37.92	37.92					278	

*Mistura de isômeros ou interação com outras moléculas

6. Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt.

Os resultados obtidos na avaliação da atividade antimicrobiana demonstraram que a tintura teve atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* em todas as concentrações; para a *Escherichia coli* apresentou inibição no crescimento nas concentrações de 500 e 250 mg/mL, e para a *Candida albicans* somente na concentração de 500 mg/mL. Não houve atividade frente a *Pseudomonas aeruginosa*, (tabela 14 e figura 38).

Tabela 14: Avaliação da atividade antimicrobiana da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. pelo método de disco difusão em agar.

Microrganismo	Concentração da tintura (mg/mL)			
	500	250	125	62,5
<i>S. aureus</i>	+ (14mm)	+ (12mm)	+ (11mm)	+ (10mm)
<i>E. coli</i>	+ (10mm)	+ (9mm)	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>C. albicans</i>	+ (10mm)	-	-	-

+ Presença de atividade antimicrobiana, no parêntese o diâmetro do halo de inibição
 - Ausência de atividade antimicrobiana

Em relação aos resultados obtidos para concentração inibitória mínima (CIM) o melhor resultado obtido foi para o *S. aureus*, seguido da *E. coli* e por último para *C. albicans*, não apresentando halo de inibição contra a *P. aeruginosa*, (tabela 15).

Tabela 15: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot. pelo método de microdiluição em caldo.

Microrganismo	(CIM)
<i>S. aureus</i>	62,5 mg/mL
<i>E. coli</i>	250 mg/mL
<i>P. aeruginosa</i>	-
<i>C. albicans</i>	500 mg/mL

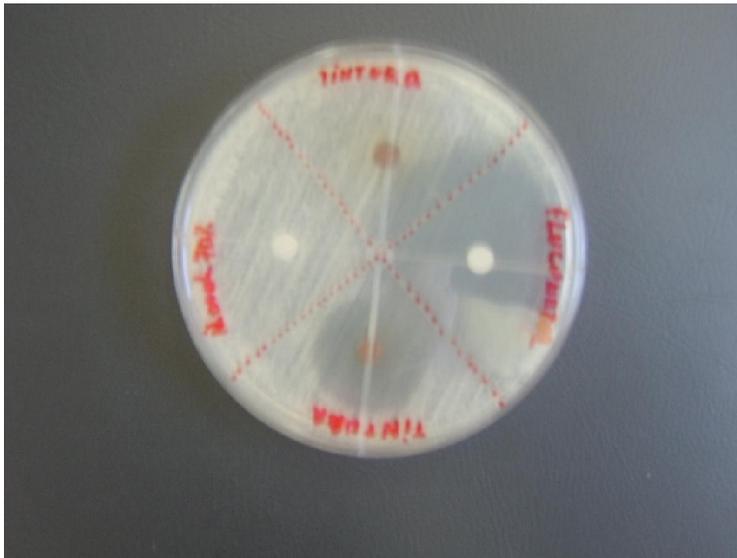


Figura 38: Fotografia da placa contendo discos de difusão impregnados com a tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., solução alcoólica de fluconazol, álcool 70% e uma tintura controle em agar Müller Hinton.

7. Planejamento da formulação

7.1. Espectros na região do infravermelho dos adjuvantes da formulação proposta, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e de suas misturas físicas

7.1.1. Espectros na região do infravermelho da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose

Os espectros em infravermelho (figura 39 e tabelas 16 e 17) da hidroxietilcelulose, mostram absorções específicas de seus respectivos grupos funcionais, conforme demonstra a sua fórmula estrutural (figura 40), assim como quando na mistura física com o extrato liofilizado.

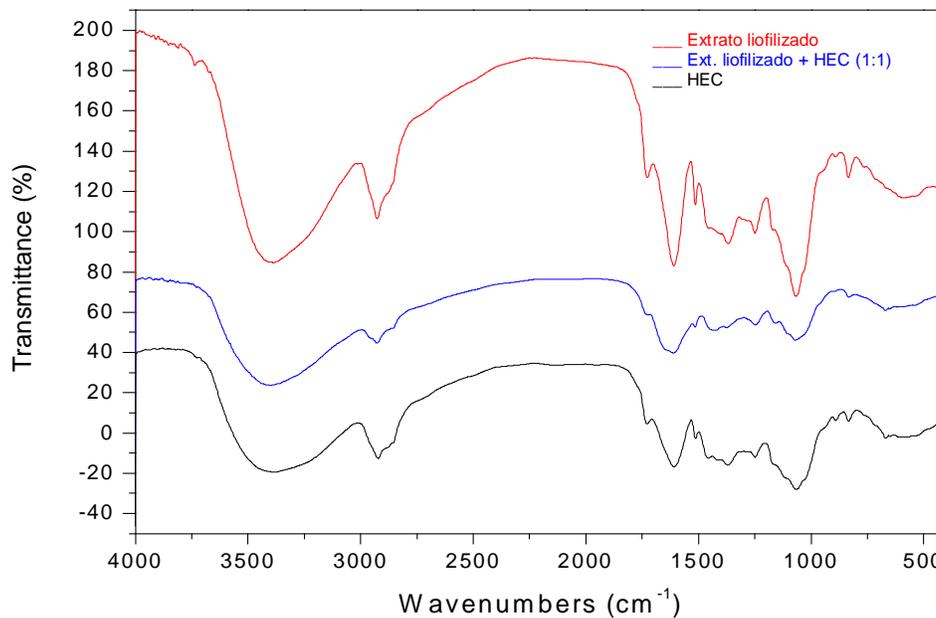


Figura 39: Espectro na região do infravermelho da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vert. e da mistura física (1:1) do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose.

Tabela 16: absorções das ligações das moléculas da hidroxietilcelulose.

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
1463, 1369	C – H
1120	C – C
1065	C – O – H

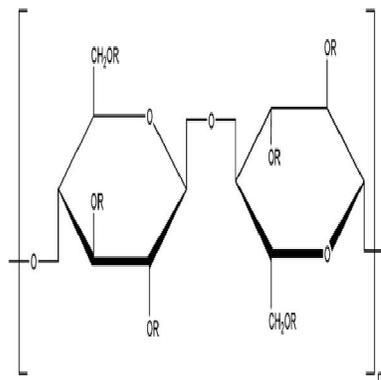


Figura 40: Fórmula estrutural da hidroxietilcelulose.

Tabela 17: absorções das ligações das moléculas da mistura física 1:1 do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. com a hidroxietilcelulose.

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
3390	- OH
1729	C = O
1645	C - C acíclico
1606	C = C conjugado com C = O
1463, 1456, 1369	C - H
1452	C = C
1120	C - O
1065	C - O - H

7.1.2. Espectros na região do infravermelho do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol

Os espectros em infravermelho (figura 41 e tabelas 18 e 19), do propilenoglicol, mostram absorções específicas de seus respectivos grupos funcionais, conforme demonstra a sua fórmula estrutural (figura 42), assim como quando na mistura física com o extrato liofilizado.

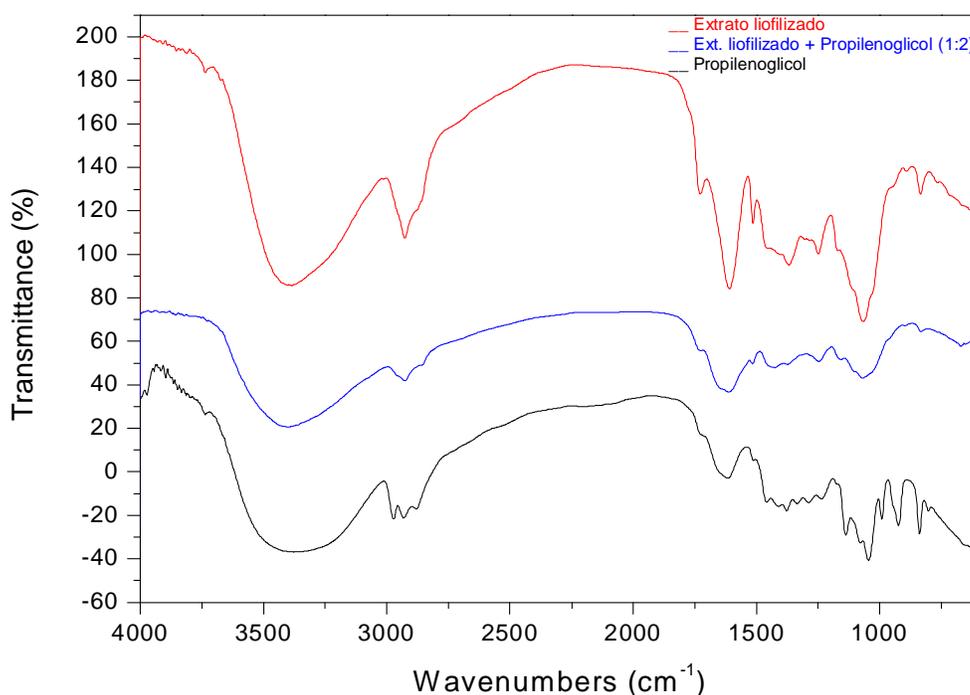


Figura 41: Espectro na região do infravermelho do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física (1:2) do extrato liofilizado com o propilenoglicol.

Tabela 18: absorções das ligações das moléculas do propilenoglicol

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
2972, 28,79, 1377	CH ₃
1645	C – C acíclico
1045	C – OH

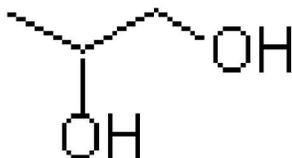


Figura 42: Fórmula estrutural do propilenoglicol.

Tabela 19: absorções das ligações das moléculas da mistura física 1:2 do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. com o propilenoglicol

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
3377	- OH
2972, 2879, 1457, 1377	CH ₃
1645	C – C acíclico
1045	C – OH

7.1.3. Espectros na região do infravermelho do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno

Os espectros em infravermelho (figura 43 e tabelas 20 e 21), do metilparabeno, mostram absorções específicas de seus respectivos grupos funcionais, conforme demonstra a sua fórmula estrutural (figura 44), assim como quando na mistura física com o extrato liofilizado.

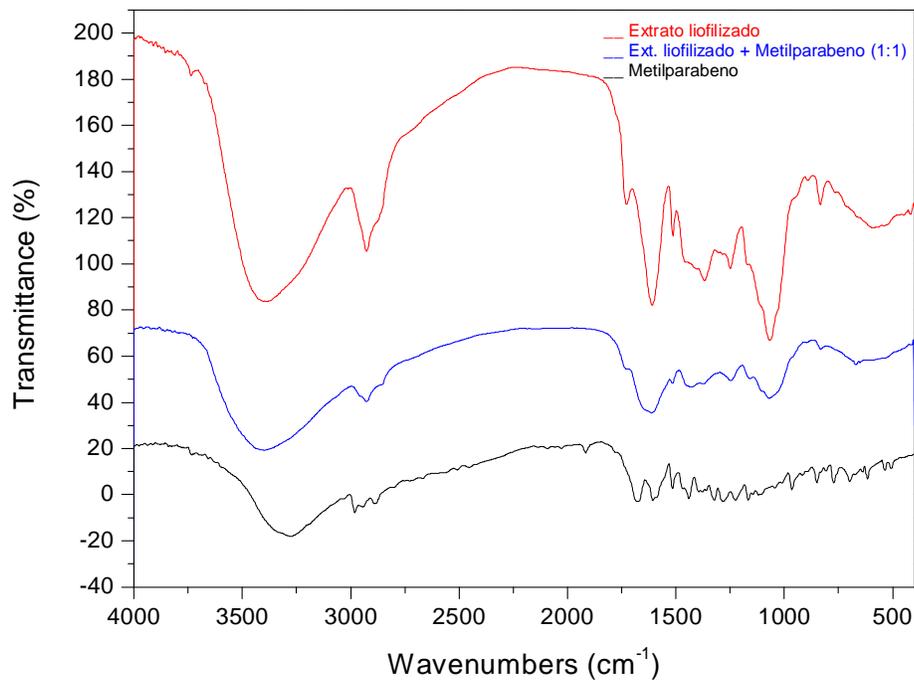


Figura 43: Espectro na região do infravermelho do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vert., e da mistura física (1:1) do extrato liofilizado com o metilparabeno.

Tabela 20: absorções das ligações das moléculas do metilparabeno

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
2980, 2890, 1440	CH ₃
1750, 1735	C = O
1322, 1119	O - CH ₃

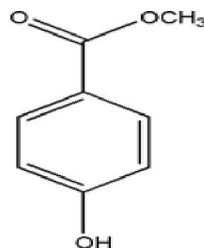


Figura 44: Fórmula estrutural do metilparabeno.

Tabela 21: absorções das ligações das moléculas da mistura física 1:1 do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., com o metilparabeno

Faixa de absorção (cm ⁻¹)	Tipo de ligação
3275	- OH
2980, 1440	CH ₃
1750, 1735	C = O
1322, 1120	O - CH ₃
1609	C = C
2957,2854, 1458	= C - H

7.2. Análises termoanalíticas dos adjuvantes da formulação proposta e das misturas físicas do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. com os adjuvantes da formulação proposta

7.2.1. Termogravimetria (TG) da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose

Nas curvas termogravimétricas obtidas para a hidroxietilcelulose, observam-se perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C houve uma perda de massa de 4,31%. Havendo uma perda total de massa de 77,75% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, apresentando resíduo de 22,24% (figura 45 e tabela 22).

Na figura 45 observam-se as curvas termogravimétricas obtidas para a mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose, onde se observa perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C houve uma perda de massa de 7,30%. Havendo

uma perda total de massa de 74,61% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, com resíduo de 25,38% (tabela 22).

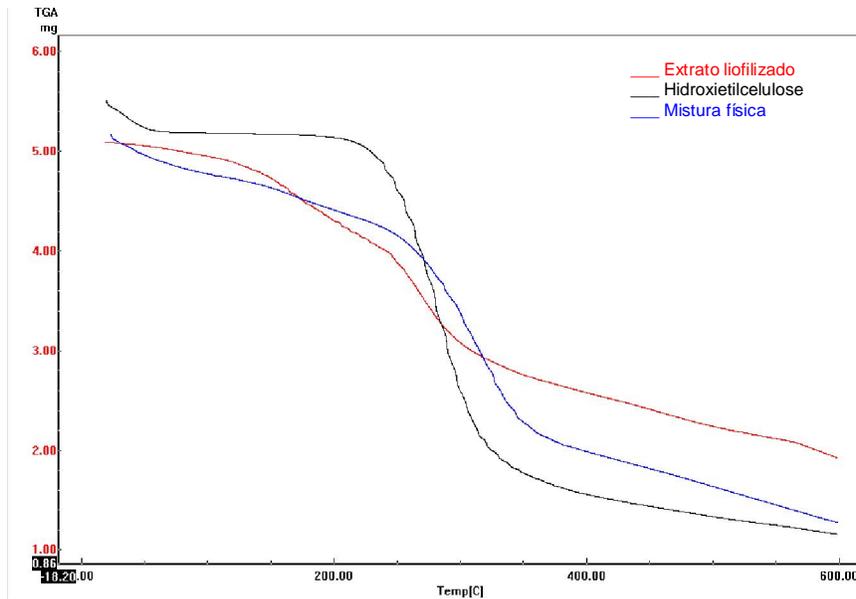


Figura 45: Termogravimetria (TG), da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose.

7.2.2. Termogravimetria (TG) do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol

Nas curvas termogravimétricas obtidas para o propilenoglicol, observa-se perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C houve uma perda de massa de 47,26%. Havendo uma perda total de massa de 99,41% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, apresentando resíduo de 0,58%, (figura 46 e tabela 22).

Nas curvas termogravimétricas obtidas para a mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol, se observa perda de massa em apenas um estágio, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C houve uma perda de massa de 7,85%. Havendo uma perda total de massa de 25,51%

na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, com resíduo de 25,51%, (figura 46 e tabela 22).

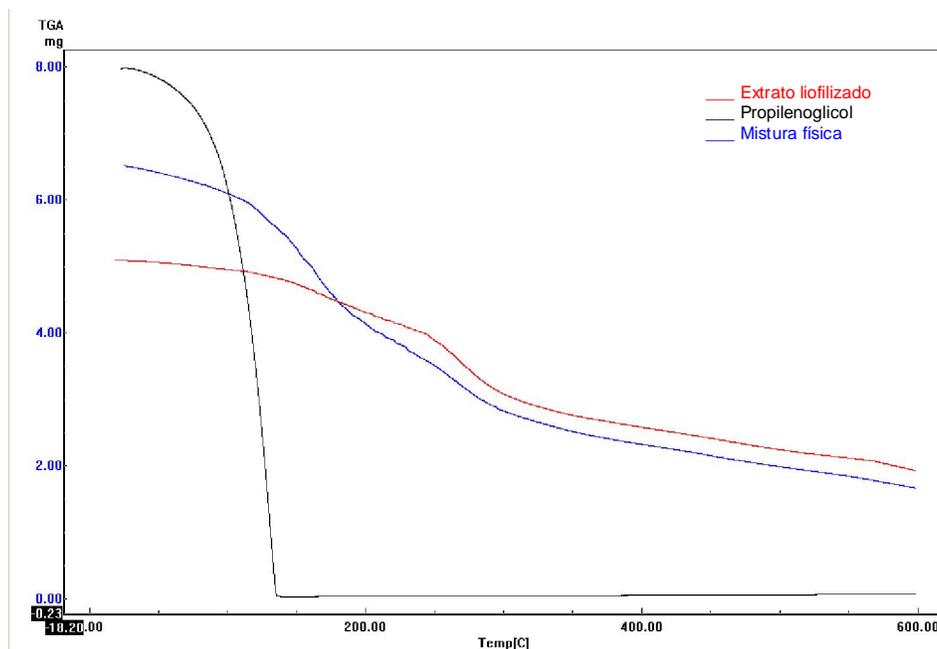


Figura 46: Termogravimetria (TG), do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol.

7.2.3. Termogravimetria (TG) do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno

Nas curvas termogravimétricas obtidas para o metilparabeno, pode-se observar perda de massa em apenas um estágio, com perda de massa de 0,004% na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, havendo perda total de massa de 98,75% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, com resíduo de 1,25%, (Figura 47 e Tabela 22).

Nas curvas termogravimétricas obtidas para a mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno, pode-se observar perda de massa em apenas um estágio, com perda de massa de 3,08% na faixa de temperatura

de 25°C a 110°C, havendo perda total de massa de 82,98% na faixa de temperatura de 25°C a 600°C, com resíduo de 19,01%, (figura 47 e tabela 22).

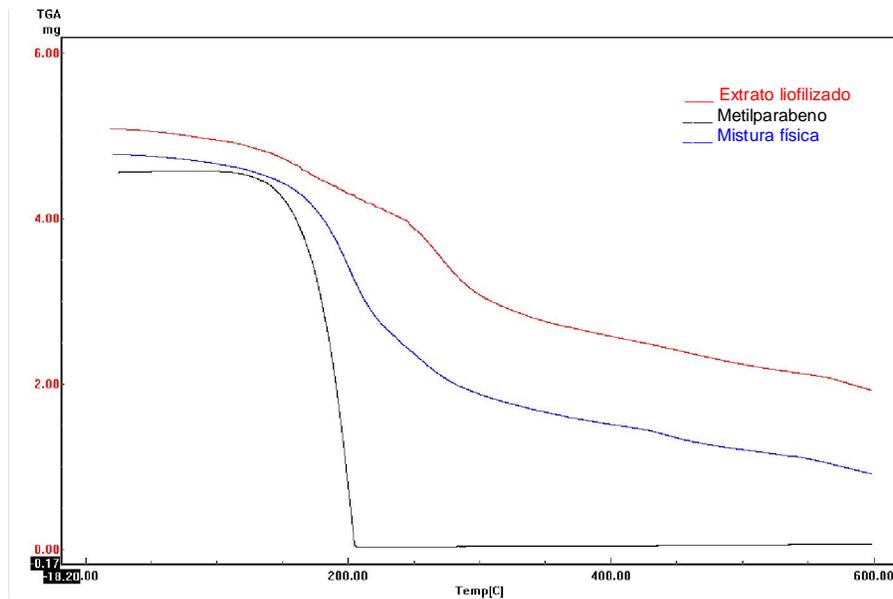


Figura 47: Termogravimetria (TG) do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vertt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno.

Tabela 22: Perda de massa do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Vertt., dos adjuvantes da formulação proposta e das misturas físicas da formulação, realizadas por termogravimetria (TG).

Amostra	25°C a 110°C	25°C a 600°C	Resíduo (%)
	Perda de massa (%)	Perda de massa (%)	
Extrato liofilizado	3,00	62,282	37,72
Hidroxietilcelulose (HEC)	4,31	77,755	22,24
HEC (mistura física 1:1)	7,30	74,614	25,38
Propilenoglicol	47,26	99,415	0,58
Propilenoglicol (mistura física 1:2)	7,852	74,488	25,51
Metilparabeno	0,004	98,750	1,25
Metilparabeno (mistura física 1:1)	3,08	80,989	19,01

7.2.4. Análise térmica diferencial (DTA) da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose

As curvas termogravimétricas diferencial da hidroxietilcelulose (figura 48) mostram que não ocorreram eventos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresentando variação de temperatura de 5,86 J/g nesta faixa de temperatura (tabela 23). Observando-se um discreto, lento e gradual evento endotérmico com pequenos picos ascendentes e descendentes, os quais se intensificam a partir de 250°C até 600°C.

As curvas termogravimétricas diferencial (DTA) da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose (figura 48) mostram um discreto evento endotérmico com pico em 59°C, com variação de temperatura de 12,35 J/g, sendo que na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresenta uma variação de temperatura de 113,68 J/g (tabela 23). A curva mostra ainda um discreto evento exotérmico com pico em 125°C, seguido de evento descendente discreto e de forma lenta e gradual até 600°C.

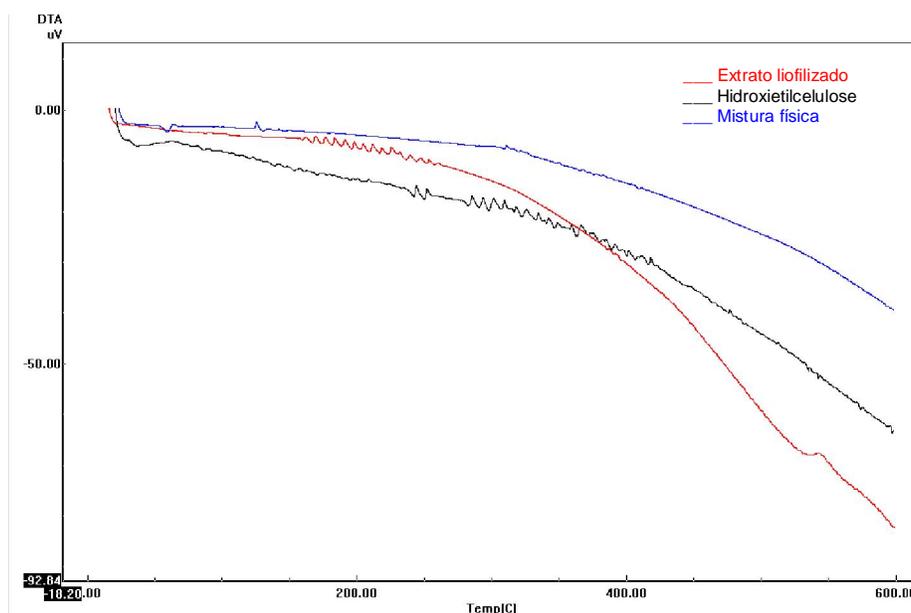


Figura 48: Curva termogravimétrica diferencial (DTA) da hidroxietilcelulose, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose.

7.2.5. Análise térmica diferencial (DTA) do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol

As curvas termogravimétrica diferencial do propilenoglicol (figura 49) mostram um pequeno evento endotérmico com início na temperatura de 75°C, apresentando variação de temperatura de 85,85 J/g na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, (tabela 23) e um grande evento endotérmico característico de ponto de fusão com pico em 121°C com variação de temperatura de 273,49 J/g. Na faixa de temperatura de 122°C a 132°C observa-se um evento exotérmico dando início ao processo de decomposição do material.

As curvas termogravimétricas diferencial da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol (figura 49) mostram que não ocorreram eventos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresentando apenas um discreto evento descendente e de forma gradual, com variação de temperatura de 225,07 J/g nesta faixa de temperatura (tabela 23).

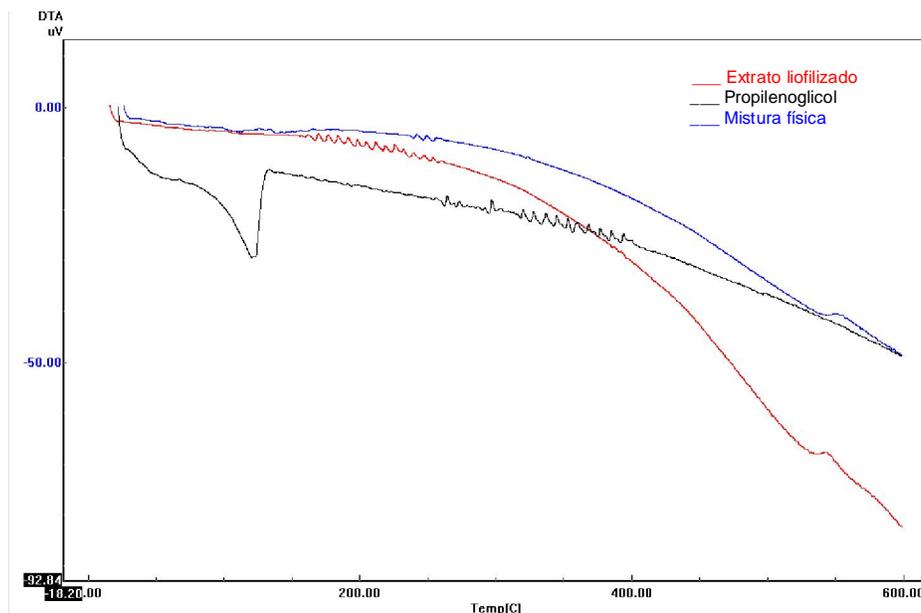


Figura 49: Curva termogravimétrica diferencial (DTA) do propilenoglicol, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt e da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com propilenoglicol.

7.2.6. Análise térmica diferencial (DTA) do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno

As curvas da termogravimetria diferencial do metilparabeno (figura 50) mostram que não ocorreram eventos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresentando variação de temperatura de 149,98 J/g (tabela 23). Observa-se um acentuado evento endotérmico a partir de 120°C, com pico característico de ponto de fusão em 125°C com variação de temperatura de 1,85 KJ/g, seguido de um evento exotérmico de 126°C a 134°C, apresentando um segundo evento endotérmico iniciando-se em 144°C com pico em 192°C com variação de temperatura de 16,37J/g, seguido de evento exotérmico a partir de 193°C até 200°C, quando se observa uma curva descendente e gradual até 600°C.

As curvas da termogravimetria diferencial da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno (figuras 50) mostram um discreto evento endotérmico em 94°C com variação de temperatura de 145,16 J/g (tabela 23), seguido de um pequeno evento ascendente na faixa de temperatura de 99°C. Na faixa de temperatura de 25°C a 110°C apresentou uma variação de temperatura de 84,10 J/g, não se evidenciando eventos térmicos relevantes desta temperatura até 300°C, quando se observa um evento descendente discreto e de forma gradual até 600°C.

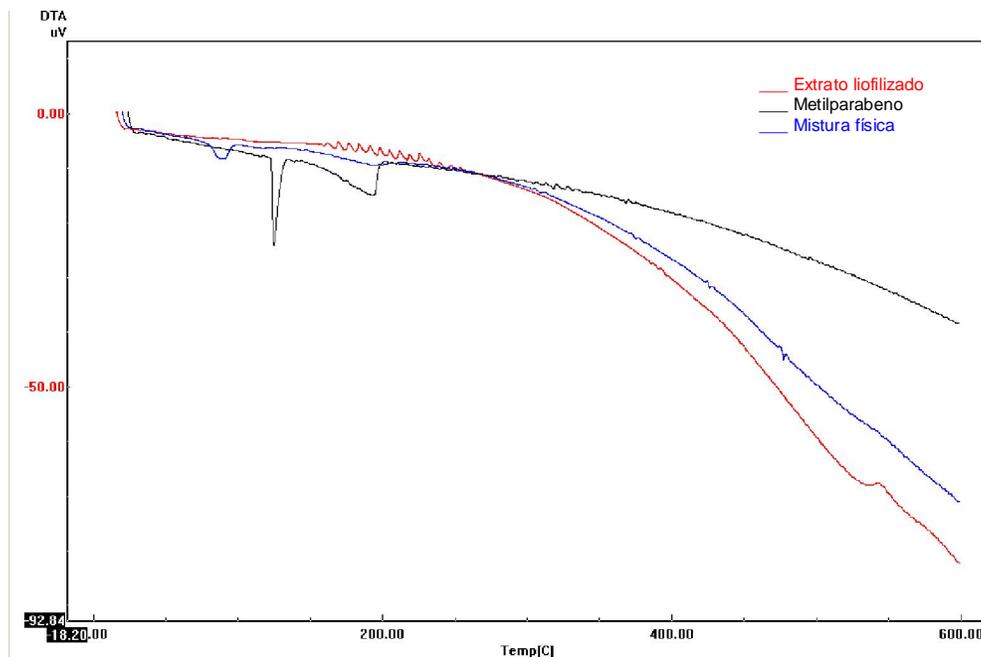


Figura 50: Curva termogravimétrica diferencial (DTA), do metilparabeno, do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno.

Tabela 23: Variações de temperaturas apresentadas pelo extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., pelos adjuvantes da formulação proposta e pelas misturas físicas do extrato liofilizado com os adjuvantes em diferentes faixas de temperaturas, analisadas por análise térmica diferencial (DTA).

Amostra	Temperatura (°C)			
	25 a 110	110 a 200	200 a 300	25 a 600
	Variação de temperatura (J/g)			
Extrato liofilizado	13,96	123,15	108,88	22,43 KJ/g
Hidroxietilcelulose (HEC)	5,86	70,09	109,31	12,35 KJ/g
HEC (mistura física 1:1)	113,68	33,54	4,43	10,02 KJ/g
Propilenoglicol	85,85	465,75	23,66	2,61 KJ/g
Propilenoglicol (mistura física 1:2)	225,07	37,06	91,59	13,28 KJ/g
Metilparabeno	149,98	663,96	61,50	4,99 KJ/g
Metilparabeno (mistura física 1:1)	84,10	47,59	203,20	16,16 KJ/g

5. DISCUSSÃO

Na primeira etapa do trabalho experimental, detivemos-nos à identificação botânica do material coletado, obedecendo ao estabelecido na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 48 de 16 de março de 2004, além do processo de caracterização física, química e físico-químico da matéria prima vegetal e a obtenção e caracterização física, química e físico-química da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. em virtude da importância que estas determinações proporcionam na montagem de métodos para controle de qualidade (SILVA JÚNIOR, 2006).

Na análise farmacognóstica da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. observou-se que a planta estudada, no plano transversal, apresenta o pecíolo com o formato plano convexo ou levemente côncavo-convexo, em toda sua extensão. Duas projeções laterais são observadas na face adaxial, tornando-se mais evidentes em direção à região distal. A epiderme é uniestratificada, contendo tricomas e dotada de cutícula delgada, semelhante aos resultados observados por Puhl *et al.* (2007), que observaram tricomas por toda a circunferência do pecíolo.

O colênquima do tipo angular é encontrado subjacente à epiderme, em toda a extensão do pecíolo. O parênquima cortical apresenta células com paredes delgadas, e pequenos espaços intercelulares. Há presença de feixes vasculares em toda a extensão do pecíolo com um cilindro de fibras ocorrendo junto ao sistema vascular. No floema foram observados os elementos de transporte e as células companheiras que ocorrem em grupos externos e internos. O xilema está situado entre os elementos do floema. Entre o esclerênquima e o floema externo há uma faixa de células parenquimáticas. Na análise do limbo, observou-se que os folíolos são hipostomáticos e dorsiventrais e o mesófilo é heterogêneo, formado por dois estratos de parênquima paliçádico abaixo da epiderme adaxial e por seis estratos de parênquima lacunoso abaixo da epiderme abaxial. O bordo apresenta-se encurvado em direção a face abaxial e é ocupado por elementos de parênquima clorofiliano, resultados estes já relatados por Oliveira *et al.*, (1998) e por Pulh *et al.* (2007).

A nervura principal contém feixe de xilema radial, sendo que entre os vasos xilemáticos encontram-se células parenquimáticas e o floema se distribui em forma de arco voltado para a face abaxial da folha e em grupo de poucas células voltadas para a face adaxial. Em corte transversal, o folíolo apresenta-se constituído por uma nervura principal e bordos laterais, revestido por uma epiderme uniestratificada com cutícula delgada. Pulh *et al.* (2007), observaram que na epiderme de *A. chica* as células da face adaxial são mais volumosas que as da face oposta e que a cutícula é ornamentada por estrias, o que não foi observado no presente estudo.

Na epiderme inferior, encontram-se tricomas simples tectores e tricomas secretores, além de estômatos, que corroboram com os resultados de Oliveira *et al.* (1998), quando relatam que tricomas tectores de formatos diversos foram descritos para espécies de Bignoniaceae.

Pulh *et al.* (2007), referem que os estômatos presentes em *A. chica* são do tipo anisocíticos e presentes apenas na face abaxial dos folíolos.

No terço basal da lâmina foliar, o sistema vascular predomina na nervura principal e está formado por feixes colaterais fechados com diâmetro maior do que nas nervuras laterais. Em torno dos tecidos condutores, encontra-se uma bainha de esclerênquima, caracterizando um feixe fechado. Há estômatos presentes na epiderme inferior, estando as câmaras subestomáticas bem diferenciadas no parênquima lacunoso. Subjacente às epidermes, o colênquima angular está formado por dois estratos celulares que acompanham toda a base da nervura, enquanto que na face superior, apenas duas faixas de 10 células colenquimáticas estão presentes. O parênquima paliçádico penetra na face superior da nervura. As células epidérmicas têm a forma esférica na face inferior e retangular na face superior. Nos bordos laterais, encontram-se as nervuras laterais ao nível do parênquima lacunoso e nestas, há feixes colaterais fechados, constituídos por xilema organizado na forma radial e floema constituído por agrupamento de elementos de tubos crivados e células companheiras. No pólo inferior do feixe, a bainha esclerenquimática encontra-se como calota de fibras e no pólo superior, as fibras estão em feixes (8 fibras) estreitando-se em direção à face adaxial, sendo que os espaços existentes entre os elementos vasculares xilemáticos e os floemáticos. Na porção superior de cada nervura lateral encontram-se quatro células de colênquima angular

subepidérmico, cujas paredes são mais espessadas nos ângulos. Na porção inferior da nervura principal, o colênquima angular é biestratificado, situado acima da epiderme inferior e acima dele há três estratos de células parenquimáticas, sobre os quais, encontram-se as calotas de fibras da bainha esclerenquimática, que também foram observados por Puhl *et al.* (2007), que citam ainda, que além da presença na nervura principal o colênquima angular é encontrado circundando o pecíolo.

Na região apical do mesófilo observam-se os elementos vasculares. Na região apical, o limbo foliar apresenta o mesmo padrão anatômico da região basal, tanto na região da nervura principal, quanto nos bordos laterais, semelhantes aos relatados por Oliveira *et al.* (1998) e Pulh *et al.* (2007).

A distribuição granulométrica do pó de vegetais determina a superfície de contato disponível para interação com o solvente utilizado no processo de extração para a obtenção do derivado vegetal. É um parâmetro preliminar importante para a escolha do processo extrativo e solvente adequado, já que influencia diretamente na eficiência do processo extrativo (MIGLIATO *et al.* 2007). A determinação da distribuição granulométrica, além de contribuir como análise de caracterização da matéria prima vegetal, demonstrou especificações (355 µm) de acordo com a Farmacopéia Brasileira (1988), onde se constatou que o pó é classificado como sendo grosso, conforme figura 25.

A determinação do teor de água residual presente nas drogas vegetais constitui um índice de qualidade de sua preparação e da garantia de sua conservação (COSTA, 1982). A perda por dessecação do pó da planta, indicativo do teor de material volátil do vegetal e, indiretamente da umidade residual, apresentou um coeficiente de variação de 9,18 %, conforme tabela 2, o qual se encontra dentro do limite estabelecido pelas diferentes farmacopéias que é de 8% a 14%, indicando uma boa conservação e uma secagem eficiente da matéria prima vegetal. Esta determinação é importante para o controle de qualidade microbiológico, pois um excesso de água na droga vegetal favorece o crescimento de fungos e bactérias, podendo também levar à hidrólise de seus constituintes (SHARAPIN, 2000).

A determinação de cinzas totais do pó da planta permite a quantificação do resíduo não volátil inorgânico presente nas drogas vegetais como integrante natural destas, sendo constituído, em particular, por carbonatos, cloretos e diversos tipos de óxidos (COSTA, 1982). É o valor que determina o teor de sílica, principalmente areia e terra silícea presente na droga (SHARAPIN, 2000).

O resultado encontrado na determinação do teor de cinzas totais de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlot. foi de 6,07 % (tabela 2), sendo que o valor aceitável para o teor de cinzas totais para esta espécie não foi encontrado nas monografias pesquisadas.

A prospecção química da tintura indicou a presença de classes químicas tais como: açúcar redutor, alcalóides, antocianidinas, antocianinas, antraquinonas, esteróides, triterpenóides, fenóis, flavanonois, flavanois, flavanonas, saponinas e taninos catéquicos (tabela 19), que corroboram com os resultados obtidos por Barbosa; Quignard (1998). O resultado positivo para alcalóides pode ser resultado de reação cruzada do reativo de Dragendorff com quinonas. A tentativa de preparar uma fração alcaloídica a partir da droga, por partição ácido-base, não forneceu resultados positivos para tal classe de metabólitos.

Na determinação do perfil cromatográfico da tintura por CCD, das várias combinações de solventes testados, os eluentes compostos por clorofórmio/metanol/água (65:30:5) e hexano/acetato de etila (80:20) obtiveram melhores resultados (tabela 11 e figuras 33 e 34), porém as bandas não ficaram bem definidas, dificultando sua comparação com os padrões de flavonóides.

O perfil cromatográfico da tintura analisado por CLAE, apresentou cromatogramas com bandas de 275 a 290 nm com pico máximo de absorção em 283 nm, que são característicos de flavanonas e flavanonois, e bandas de 330 a 350 nm com pico máximo em 334 nm, característicos de flavonas e biflavonois (figura 51). Encontrou-se ainda, banda de 390 a 430 nm, característicos de auronas, porém não podendo-se confirmar se é aurona devido as outras bandas características que não foram identificadas (figuras 35 e 37 e tabelas 11 e 12).

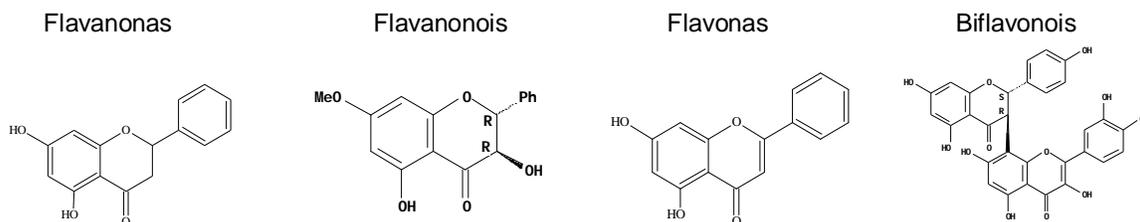


Figura 51: Estruturas moleculares características de flavanonas, flavanonois, flavonas e biflavonois.

Algumas dessas classes químicas encontradas na prospecção química, como taninos e saponinas e as flavanonas, flavanonois, flavonas e biflavonois detectados por CLAE podem ser indicativos que justifique o uso popular da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. como antimicrobiano e antifúngico (RATES, 2000; LORENZI; MATOS, 2002; CAPASSO, 2003; FENER, 2006; SANTOS; MELLO, 2007; ZUVANAZZI; MONTANHA, 2007).

O resultado obtido no ensaio gravimétrico de perda por dessecação para o pó de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. que foi de 9,18 % (tabela2) e o teor de sólidos da tintura que foi de 2,6 % (tabela 5) estão entre os valores observados pelas curvas TG (figuras 27 e 30) no intervalo de temperatura de interesse, mostrando que a termogravimetria pode fornecer uma estimativa do conteúdo de água residual presente no material após seu preparo, (SILVA JÚNIOR, 2006).

A escolha da termogravimetria (TG) e da análise térmica diferencial (DTA) para o desenvolvimento de nosso trabalho reside no fato deste grupo de técnicas terem despertado, nos últimos anos, o grande interesse dos pesquisadores e tecnólogos para estudos que envolvam a caracterização da droga de origem natural ou sintética, além de alimentos. É importante ressaltar que os resultados gerados conduzem a parâmetros relevantes no processamento industrial de fármacos e de medicamentos. Por exemplo, uma das potencialidades analíticas da termogravimetria é determinar os teores de umidade do material analisado e, por isso, é utilizada no controle biológico para o armazenamento. Além disso, podem ser utilizadas para a determinação do teor de cinzas como indicador da qualidade de sais minerais e possíveis adulterações do material com compostos inorgânicos, assim como, a

obtenção de parâmetros cinéticos através de métodos de cálculos adequados (FELSNER; MATOS,1998).

Optou-se em liofilizar a tintura, na intenção de se manter uma melhor estabilidade do material, conservando-se sua composição química e sua atividade terapêutica (AYROSA, 2004; AYROSA *et al*, 2007).

As análises termoanalíticas (TG e DTA) do pó da planta, do extrato liofilizado e dos adjuvantes da formulação na primeira etapa do trabalho, foram analisadas na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, próxima da faixa de temperatura usada nas análises realizadas pelo método descrito na Farmacopéia Brasileira (1988), para se aproximar das condições experimentais entre os métodos convencionais e termogravimétricos a fim de que os mesmos pudessem ser comparados.

A perda de massa de 8,0% apresentada na primeira etapa da curva TG (figura 27 e tabela 3) do pó da planta no intervalo da temperatura de 25°C até 110°C, está de acordo com aqueles apresentados na curva DTA (figura 28) e pode ser atribuída à perda de água e das substâncias voláteis do material vegetal. Na curva TG do pó da planta, observou-se eventos que, assim como evidenciados na curva DTA (figuras 27 e 28) correspondem à perda de água superficial ou de umidade. A partir de 110°C evidenciaram-se eventos caracteristicamente exotérmicos que estão associados à decomposição térmica do material. Os eventos térmicos observados nas curvas TG, de 105°C até 200°C (figura 27 e tabela 3) correspondem a uma pequena perda de massa, em torno de 3,5%, que pode ser atribuída aos componentes voláteis da planta. De 200°C até 388°C há uma perda de massa mais acentuada de 41%, atribuída provavelmente à queima de fibras do material vegetal. A partir daí, a perda de massa pode ser atribuída à carbonização de material orgânico da planta até a obtenção de cinzas.

Em relação ao extrato liofilizado, a curva TG (figura 30 e tabela 7) mostra perda de massa de 3,0% na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, que juntamente com os eventos térmicos evidenciados na curva DTA (figura 31) podem ser atribuídos à perda de água e das substâncias voláteis do material vegetal. A partir de 110°C evidenciaram-se eventos caracteristicamente exotérmicos que estão associados à decomposição térmica do material. Os eventos térmicos observados nas curvas TG/DTA, de 110°C até 200°C

correspondem a uma perda de massa em torno de 12% que pode ser atribuído aos componentes voláteis da tintura. De 200°C até 300°C observou-se perda de massa de 24%, atribuída provavelmente à queima de material orgânico presente na tintura, até a obtenção de cinzas do material.

As análises térmicas mostram que tanto o pó da planta quanto o extrato liofilizado apresentam boa estabilidade física até 170°C, (figuras 27 e 28).

O espectro obtido no infravermelho fornece um agregado muito rico de bandas de absorção. A análise das bandas características de determinados grupos funcionais de uma molécula fornece, através de um simples exame de espectro e consulta a tabelas de dados, um conjunto valioso de informações sobre a estrutura da molécula (BARBETTA, 2006; LIMA *et al.*, 2007).

Nas análises tanto do pó como do extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. por espectroscopia na região do infravermelho, que foram realizadas com o objetivo de inferir informações preliminares sobre os constituintes químicos da planta, observou-se no pó da planta bandas de absorção em 1611 cm^{-1} , 1515 cm^{-1} , 1425 cm^{-1} e 1726 cm^{-1} , sugestivo para grupo funcional éster. A forte absorção em 3396 cm^{-1} aponta para umidade residual do pó, que foi de 9,18%, (figura 26).

No extrato liofilizado observaram-se bandas de absorção em 1609 cm^{-1} , 1512 cm^{-1} , 1458 cm^{-1} e 1723 cm^{-1} , os quais podem ser atribuído a grupo funcional éster, e uma forte absorção em 3376 cm^{-1} característica de -OH presente em muitos constituintes do extrato liofilizado e do etanol presente na solução extratora (figura 29 e tabela 6). Basicamente os mesmos grupamentos funcionais aparecem nos espectros das duas amostras. Como todo ciclo produtivo, a obtenção dos produtos intermediários depende da perfeita caracterização dos produtos que os originam (SILVA JÚNIOR, 2006), por esta razão o extrato liofilizado foi preparado com material devidamente caracterizado.

O desenvolvimento de formulações para aplicação na pele é uma estratégia interessante para veicular fármaco de ação sistêmica ou até mesmo aqueles cujo alvo é a própria pele, entretanto, obter estes sistemas não é tão fácil, pois a pele funciona como uma barreira de prevenção contra perda de

substâncias fisiológicas e ao mesmo tempo impede que substâncias potencialmente tóxicas, oriundas do meio ambiente, venham a se difundir. Esta barreira protetora é permeável a apenas pequenas moléculas lipofílicas, conseqüentemente aquelas maiores e de alta polaridade encontram dificuldades de penetração (POTTS; GUY, 1997). Com o intuito de vencer esta barreira surge a necessidade para obtenção de novos veículos e tecnologias que promovam efeito desejado, seguro e controlado de fármaco pela via cutânea (SILVA JÚNIOR, 2006).

A escolha de se usar um gel à base de hidroxietilcelulose para incorporar o extrato liofilizado, deve-se ao fato do mesmo ser de natureza não-iônica, possuir estabilidade em ampla faixa de pH e apresentar facilidade de aplicação e fácil espalhabilidade sobre a pele (MAIA CAMPOS, 1994; CORRÊA *et al.*, 2005).

No desenvolvimento de formulações farmacêuticas ou cosméticas o estudo da estabilidade é um dos principais fatores que devem ser avaliados. Estes estudos são realizados rotineiramente pelas indústrias farmacêuticas, porém, requerem longos períodos de armazenamento das amostras, sob condições controladas de temperatura e umidade (ANSEL *et al.*, 2002; ALLEN Jr. *et al.*, 2007). As técnicas termoanalíticas apresentam várias vantagens nos estudos de interação entre o princípio ativo e excipientes, estudo de degradação e estabilidade de formas farmacêuticas, entre outras aplicações (SOUZA *et al.*, 2002; BAZZO e SILVA, 2005).

Os adjuvantes farmacêuticos são normalmente considerados inertes, entretanto, interações físicas e químicas com a substância ativa podem vir a ocorrer. Em uma formulação farmacêutica ou cosmética, principalmente fitoterápicas, dificilmente será encontrada apenas uma única substância; em geral mais princípios ativos estão presentes, bem como adjuvantes. A escolha dos excipientes e adjuvantes adequados para qualquer formulação deve se basear nas características do princípio ativo, bem como na sua compatibilidade com os demais componentes da formulação, pois de fato, interações entre princípio ativo e excipientes podem afetar a natureza química e estabilidade da formulação, e, conseqüentemente, sua eficácia e segurança (TAGLIARI *et al.*, 2008). Portanto, os estudos de compatibilidade representam uma importante fase no estágio de pré-formulação e a análise térmica é uma ferramenta útil

para a rápida avaliação de possíveis incompatibilidades entre o princípio ativo e os adjuvantes da formulação, de acordo com a aparência, deslocamento ou desaparecimento de picos de fusão e ou variações no valor de variação de temperatura, sendo realizada por meio das técnicas termoanalíticas como, termogravimetria (TG), calorimetria diferencial de varredura (DSC) e análise térmica diferencial (DTA) já que a estabilidade térmica permite a determinação da capacidade de uma substância de manter suas propriedades sob variações térmicas (SALGADO *et al.*, 2005; ALVES, 2007; TAGLIARI, 2008).

A termogravimetria (TG) permite registrar as variações de massa em função do tempo do ciclo de aquecimento ou arrefecimento e ou temperatura. Desta forma, as curvas obtidas podem fornecer informações referentes à estabilidade térmica da formulação.

O estudo de compatibilidade entre o fármaco e os adjuvantes, fornece informações sobre a estabilidade dos medicamentos. Estes estudos consistem na investigação da estabilidade da substância ativa frente a possíveis interações físicas e químicas na presença de adjuvantes que fazem parte da formulação farmacêutica (STUZER *et al.*, 2006).

A ocorrência de interações entre fármacos e adjuvantes em formas farmacêuticas pode ocasionar mudanças na estabilidade e biodisponibilidade dos fármacos. A técnica DTA, associada à técnica de TG têm-se mostrado de muita utilidade nos estudos de pré-formulação na investigação e predição de incompatibilidades físico-químicas entre fármacos e adjuvantes (ALVES, 2007).

Logo, analisando-se as curvas termogravimétricas (TG) do extrato liofilizado (Figura 28) pode-se observar que na faixa de temperatura de interesse 25°C a 110°C houve uma perda de massa de apenas 3,0% (Tabela 5) correspondentes à perda de água e das substâncias voláteis da amostra, mostrando a estabilidade térmica da mesma nesta faixa de temperatura.

Na curva termogravimétrica diferencial (DTA) do extrato liofilizado (Figura 29) observa-se que também não ocorreram efeitos térmicos relevantes na faixa de temperatura de 25°C até 110°C, observando-se que os eventos térmicos característicos de decomposição do material iniciam-se a partir de 158°C.

Por conseguinte, as curvas TG e DTA do extrato liofilizado indicam que o mesmo é termicamente estável na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C.

A partir das curvas TG e DTA do extrato liofilizado foram feitas as comparações com as curvas das misturas físicas dos diferentes adjuvantes usados na formulação do gel, para se avaliar a compatibilidade entre eles.

Na rápida triagem de adjuvantes, na realização de um estudo de pré-formulação, assume-se que as propriedades térmicas de misturas ou de formulações em teste, são iguais à soma das contribuições de cada componente individual. Os estudos de compatibilidade fármaco-adjuvantes são geralmente conduzidos através da obtenção de curvas DTA do fármaco, do adjuvante e da mistura na proporção 1:1 do fármaco e do adjuvante.

A técnica DTA permite a rápida avaliação de possíveis interações entre fármacos e adjuvantes através do aparecimento, deslocamento, redução significativa ou desaparecimento de eventos térmicos, com variações de valores de variação de temperatura na curva DTA de misturas de fármaco-adjuvante.

O mesmo deve acontecer para os registros por TG, em que a diminuição da estabilidade térmica das substâncias quando em misturas, representadas por deslocamentos de eventos de perda de massa, podem ocorrer quando há diferenças significativas nestas curvas (PINHO, 1999; ALVES, 2007).

Assim, foram realizados estudos termoanalíticos dos adjuvantes da formulação do gel proposto para veicular o extrato liofilizado (hidroxietilcelulose, propilenoglicol e metilparabeno), na intenção de se avaliar a compatibilidade entre eles e o extrato liofilizado (tabela 1).

A hidroxietilcelulose (HEC) é um polímero gelificante formador de gel não iônico, úteis como veículo para diversos princípios ativos, dentre esses, os que possuem características ácidas (CORRÊA, 2005; PHARMASPECIAL, 2008), e foi o polímero escolhido para preparar o gel proposto para veicular o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. A hidroxietilcelulose se decompõe na temperatura de 205°C a 210°C (PHARMASPECIAL, 2008; FISPQ, 2008; SBRT, 2008; ABIQUIM, 2008).

Na figura 45, representando as curvas termogravimétricas (TG) da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose, observou-se que não ocorreram mudanças significativas na faixa de temperatura de 25°C a 110°C, apresentando perda de massa de 3,0%, 4,3% e 7,3% respectivamente para o extrato liofilizado, a hidroxietilcelulose e para a mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose (tabela 22), que como se observa, representam o somatório das substâncias isoladas, evidenciando-se um indicativo da não ocorrência de incompatibilidade entre o extrato liofilizado e a hidroxietilcelulose (PINHO, 1999; ALVES, 2007; SOBRINHO, 2007).

Comparando-se as curvas por DTA da hidroxietilcelulose e da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com a hidroxietilcelulose (figura 48 e tabela 23), observa-se que não há mudanças significativas nos eventos térmicos na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C, já que os eventos térmicos evidenciados nesta faixa de temperatura são característicos de deflexão inicial proporcional à capacidade calorífica, seguida de evaporação da umidade da amostra.

A confirmação da natureza de um evento térmico, físico ou químico, é realizada através da curva termogravimétrica (TG). Se não houver variação de massa na mesma temperatura, nas mesmas condições experimentais em que houve variação de energia na curva DTA, pode-se dizer que se trata de um evento físico (fusão, por exemplo) (ALVES, 2007; ALLEN JR., 2007).

O propilenoglicol, adjuvante usado na formulação do gel de hidroxietilcelulose proposto para veicular o extrato liofilizado, é um líquido incolor, viscoso e higroscópico; usado como adjuvante farmacêutico, solvente, agente plastificante e umectante (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988), muito usado em formulações farmacêuticas de uso externo, devido diminuir a agressividade do álcool normalmente usado nestas formulações e promover a hidratação da pele. Possui ponto de fusão em -60°C e faixa de ebulição de 187°C a 189°C (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988; PHARMASPECIAL, 2008; FISPQ, 2008; SBRT, 2008; ABIQUIM, 2008).

Através das curvas termogravimétricas (TG) da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol (figura 46), pode-se observar que na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C a mistura física 1:2 do

propilenoglicol apresenta melhor estabilidade térmica do que o propilenoglicol puro, já que se observa uma perda de massa de 47,26% do propilenoglicol puro ocorrendo em apenas um estágio, com cinética rápida a partir de 51°C até 135°C, para apenas 7,85% da mistura física (tabela 22), a qual é característica de perda de umidade da mistura, ocorrendo de forma mais lenta e gradativa, passando a curva (TG) da mistura física a apresentar características mais próximas da curva (TG) do extrato liofilizado, não ocorrendo diferenças significativas nestas curvas, sendo um indicativo de não haver incompatibilidades entre as mesmas (PINHO, 1999; ALVES, 2007).

As curvas termogravimétricas diferencial (DTA) da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol (figura 49) mostram que não ocorreram eventos térmicos relevantes na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C, apresentando apenas um discreto evento descendente e de forma gradual, com variação de temperatura de 225,07 J/g nesta faixa de temperatura. Observa-se que a diferença no valor da variação de temperatura ocorreu com aumento neste valor, de 85,85 J/g do propilenoglicol para 225,07 J/g da mistura física (tabela 23). Logo, o comportamento térmico da mistura física 1:2 do extrato liofilizado com o propilenoglicol, individualmente, mostrou as mesmas características dos eventos térmicos do extrato liofilizado, sendo um indicativo de não haver incompatibilidade entre eles (STULZER; TAGLIARI, 2006; SOBRINHO, 2007).

O metilparabeno, (para-hidróxibenzoato de metila) usado como conservante da formulação do gel, é um pó cristalino, fino, branco e praticamente inodoro, sendo muito usado como conservante fungicida (FARMACOPEIA BRASILEIRA III, 1977), impedindo o desenvolvimento de microorganismos que poderiam deteriorar a formulação, mantendo assim, a integridade do medicamento. É um conservante bastante empregado em formulações cosméticas e farmacêuticas, possuindo amplo espectro de ação contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e fungos. Possui ponto de fusão em 131°C e faixa de ebulição de 270°C a 280°C (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988; PHARMASPECIAL, 2008; FISPQ, 2008; SBRT, 2008; ABIQUIM, 2008).

Através da curva termogravimétrica (TG) da mistura física 1:1 do extrato liofilizado, com o metilparabeno (figura 47), pode-se observar que na

faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C não ocorreram eventos térmicos significativos, havendo perda de massa de 0,004% e 3,08% respectivamente para o metilparabeno e para sua mistura física com o extrato liofilizado (tabela 22), demonstrando que as curvas termogravimétricas da mistura física representam o somatório das substâncias isoladas, o que é indicativo de ausência de incompatibilidade entre os mesmos (PINHO, 1999; ALVES, 2007; SOBRINHO, 2007).

As curvas termogravimétricas diferencial (DTA) da mistura física 1:1 do extrato liofilizado com o metilparabeno (figura 50) mostram alteração no valor da variação de temperatura, de 149,98 J/g do metilparabeno para 84,10 J/g da mistura física na faixa de temperatura de interesse, de 25°C a 110°C (tabela 23). Este valor equivale a praticamente a metade da variação de temperatura do metilparabeno puro, visto que se trata de misturas físicas na proporção de 1:1, mas mesmo assim, não houve diminuição do valor da variação de temperatura em relação ao extrato liofilizado. Os eventos térmicos que ocorreram nesta faixa de temperatura de interesse foram de pequenas alterações, provavelmente devido às misturas físicas, sugerindo, que não há ocorrência de interações entre os mesmos (MURA *et al.*, 1998a; MACEDO; NASCIMENTO, 2001; BAZZO; SILVA, 2005).

O infravermelho, aliado as outras técnicas é importante para monitorar os estudos de pré-formulação auxiliando na seleção de componentes da formulação (ZARONI, 2006). A aplicação desta técnica analítica no presente trabalho teve por finalidade avaliar possíveis incompatibilidades do extrato liofilizado com os outros componentes da formulação proposta. Os espectros em infravermelho dos adjuvantes puros, quando comparados com os espectros obtidos de sua mistura física com o extrato liofilizado revelaram que não há modificação significativas no perfil de absorção (figuras 39, 41 e 43 e tabelas 16 e 21). As bandas presentes nos espectros dos adjuvantes puros e de suas misturas físicas coincidem com os presentes no espectro do extrato liofilizado, sugerindo a ausência de interação entre os mesmos (ZARONI, 2006).

Portanto, os perfis traçados pelas diferentes técnicas termoanalíticas da mistura física dos adjuvantes com o extrato liofilizado demonstram que até 110°C a perda de massa seja provavelmente em decorrência do processo de perda de água superficial ou de umidade, e

demonstram que a cinética de decomposição do extrato liofilizado é alterada em função do tempo e dos adjuvantes, porém, apesar das alterações pode-se observar que nesta faixa de temperatura de interesse, de 25°C até 110°C, o efeito não demonstra ser significativo a ponto de ser indicativo de incompatibilidade entre o extrato liofilizado e os adjuvantes da formulação proposta. As análises realizadas sugerem que a ocorrência destas pequenas alterações seja em virtude de uma possível somatória de eventos, onde esteja havendo provavelmente uma predominância de eventos térmicos dos adjuvantes (BAZZO; SILVA, 2005; SILVA JÚNIOR, 2006; ALVES, 2007).

Com isso podemos relatar que as técnicas analíticas de infravermelho e análises térmicas não sugerem a ocorrência de interações do extrato liofilizado com os respectivos adjuvantes da formulação proposta.

Na avaliação da atividade antimicrobiana da tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl) B. Verlt., os resultados obtidos demonstraram que a tintura apresentou inibição em todas as concentrações para o *S. aureus*, para a *E. coli* apresentou inibição nas concentrações de 500 e 250 mg/mL para a *C. albicans* somente na concentração de 500 mg/mL, não apresentando inibição para a *P. aeruginosa*, o que difere dos resultados relatados por Barbosa; Quinard (1998), que trabalhando com extrato haxânico, extrato etanólico e extrato aquoso, não observaram atividade antimicrobiana contra estas cepas.

Os valores obtidos, quando comparados com os fármacos padrão clorafenicol e fluconazol (dados não apresentados neste trabalho), demonstraram bons resultados na inibição dos microorganismos testados (tabelas 14 e 15 e figura 38).

A tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl) B. Verlt., inibiu a *C. albicans*, apresentando, portanto, atividade antifúngica, porém novamente diferente dos valores obtidos por Barbosa; Quignard (1998) cujo resultado foi negativo para este fungo, porém nos testes realizados pelos autores referenciados, houve inibição do crescimento do fungo *T. mentagrophytes* que não foi avaliado no nosso trabalho. Entretanto, os estudos realizados demonstraram atividades antimicrobiana e antifúngica, o que corroboram os resultados de Fenner *et al.* (2006).

Esta atividade antimicrobiana e antifúngica, provavelmente esteja relacionada à presença de algumas classes químicas detectadas por

cromatografia líquida de alta eficiência, como taninos, saponinas, flavanonas, flavanonois, flavonas e biflavonois, justificando, com isso, um dos usos popular da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., como antimicrobiano e antifúngico.

6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, nos permite concluir que as análises realizadas neste trabalho para a caracterização física, química e físico-química tanto da matéria prima vegetal quanto do seu produto intermediário, que foi a tintura da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. demonstraram que os procedimentos adotados desde a coleta, identificação, secagem, pulverização e obtenção da tintura foram eficientes, já que constatou-se que tanto o material vegetal, quanto a tintura obtida do mesmo estão dentro das especificações farmacopéicas, pois observou-se que o pó da matéria vegetal apresentou umidade dentro do limite superior estabelecido por diferentes farmacopéias, o que demonstra que a obtenção e secagem do material foi eficiente, indicando uma boa conservação e estabilidade do material vegetal e de seu produto intermediário (tintura).

Os resultados obtidos evidenciaram ainda o comportamento térmico tanto do pó do material vegetal quanto do extrato liofilizado, e para isso, as técnicas utilizadas no desenvolvimento desse trabalho foram consideradas rápidas, eficientes e capazes de avaliar com segurança a estabilidade térmica do material vegetal e de seu produto intermediário (tintura), como um controle de qualidade e suas viabilidades nos estudos futuros.

Os métodos termogravimétricos demonstraram várias vantagens, como menor tempo de realização das análises, menor consumo de amostras, a diminuição dos erros cometidos com a manipulação das amostras, além de terem possibilitado a visualização do perfil termoanalítico. Apesar do custo mais elevado de uma análise, quando comparado a um método convencional, este método apresenta maior eficácia, apreciável potencial na obtenção de parâmetros tecnológicos e controle de qualidade.

Através dos valores obtidos nas análises antimicrobianas constatou-se a validade da indicação popular da *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. como antimicrobiano e antifúngico, citado por diferentes pesquisadores, já que cepas de *Staphylococcus aureus* e *Cândida albicans*

foram sensíveis à tintura deste vegetal, justificando um dos objetivos desse trabalho.

Nos estudos de pré-formulação usando metodologias termoanalíticas e de espectroscopia na região do infravermelho, não foram constatadas alterações que sugerisse interações do extrato liofilizado com os adjuvantes hidroxietilcelulose, propilenoglicol e metilparabeno, constituintes da formulação proposta.

Com base nos resultados, a associação dos adjuvantes da formulação proposta com o extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. se faz justificada, pois a estabilidade do extrato liofilizado e conseqüentemente da formulação proposta não é comprometida. Evidenciando assim, a ausência de interações prejudiciais entre o extrato liofilizado e os adjuvantes da formulação proposta, salvaguardando possíveis problemas futuros de incompatibilidade no estudo de estabilidade.

O extrato liofilizado de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., por meio de estudos de avaliação da sua atividade antimicrobiana e por diferentes técnicas analíticas, demonstrou adequar-se ao fim pretendido, além de ter assegurado a compatibilidade com os adjuvantes testados para constituírem a formulação proposta, já que os resultados demonstraram que não houve incompatibilidade física ou química entre o extrato liofilizado e os adjuvantes utilizados no estudo de pré-formulação.

Os estudos realizados fornecem dados relevantes para o desenvolvimento da formulação proposta, visando obter resultados rápidos e com a precisão desejada.

Diante dos resultados obtidos pode-se prever a obtenção de uma forma farmacêutica semi-sólida fitoterápica contendo a tintura de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt., utilizando os adjuvantes testados, possibilitando assim a continuidade de um desenvolvimento farmacotécnico de forma racional.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIFITO - Associação Brasileira da Indústria Fitoterápica, Uma legislação justa para os produtos de origem natural. Disponível em: <http://www.abifito.com.br>. Acesso em 7 de set. 2007.

ABIQUIM –Associação Brasileira da Indústria Química. Disponível em: <http://www.abiquim.org.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

ALLEN Jr., L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

ALMEIDA, I.F.; BAHIA, M.F. Reologia: interesse e aplicações na área cosmético-farmacêutica. *Cosmetics & Toiletries*, v.15, p.96-100, 2003.

ALVES, M.P.; LEITE, P.H.A.S.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, L.F. PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; LIMA, E.O. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn. (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 16, n. 2: 192 – 196, Abr./ Jun. 2006.

ALVES, R. Estufa termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de refampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose. Dissertação de mestrado – Universidade de São Paulo, São Paulo 2007.

AMOROSO, M. C. M.; GELY, A. Uso de Plantas Medicinais por Caboclos do Baixo Amazonas; Barcarena: PA; Museu Paraense Emilio Goeldi, v.4, p.47. 1988.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, V. G.; ALLEN, JR. L. V. Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Editora Premier. 568p. 2000.

ARAGÃO, C.F.S.; SOUZA, F.S.; BARROS, A.C.S.; VERAS, J.W.E.; BARBOSA FILHO, J.M.; MACEDO, R.O. aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.) Menispermaceae. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 12, supl., p.60 – 61, 2002.

ARAÚJO, A.A.S. Análise térmica e determinação dos parâmetros cinéticos de preparações farmacêuticas e novas especialidades de zidovudina. 225f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, São Paulo, 2003.

ARAÚJO, A. A.; S. MERCURI, L. P.; SEIXAS, S. R. S.; STORPITIS, S.; MATOS, J. R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 42, n.2, abr/jun., 2006.

AYROSA, A.M.I.B. Liofilização: ciência ou arte? Revista de Engenharia da FAAP, São Paulo, v.44-40, 2004.

AYROSA, A.M.I.B.; MAIZATO, M.J.; POLAKIEWICZ, B.; BEPPU, M.M.; PITOMBO, R.N.M. Estudo do comportamento higroscópico do pericárdio bovino liofilizado. Revista Matéria (UFRJ), v. 12. p. 313-321. Rio de Janeiro, 2007.

BARBOSA, W. L. R., QUIGNARD, E. Projeto Integrado – Departamento de Farmácia / UFPA – Relatório Final de Atividades. Belém-Pa. 1997-1998.

BARBOSA, W. L. R. Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. Revista Científica da UFPA. Belém-Pa. 2001. Disponível em <http://www.ufpa.br/rcientifica>. vol. 4, 2004. Acesso em 12 de janeiro de 2007.

BARBOSA, W.L. R. Composição e Bioatividade de *Arrabidaea chica*, 1º Congresso Internacional de Ciências Farmacêuticas, Ribeirão Preto, SP, abril de 1997.

BARBETTA, C.M.; MAGINI, M.R. Espectros eletromagnéticos na região do infravermelho: utilização na caracterização de novos materiais. In: X Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VI Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. S. José dos Campos. Universidade Vale do Paraíba, 2006. v. 13.

BAUER, A.W. *et al.* Antibiotic susceptibilities testing by standard single disc diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.

BAZZO, G.C.; SILVA, M.A.S. Estudo termoanalítico de comprimidos contendo captopril através de termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, vol. 41, n.3, 2005.

BELLO, C. M.; MONTANHA, J. A.; SHENKEL, E. P. Análise das bulas de medicamentos fitoterápicos comercializados em Porto Alegre, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 12, n.2, p. 75-83, 2002.

BERTINI, L.M. *et al.* Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, v.17, n.3/4, p.80-83, 2005.

BILIA, A.R.; BERGONZI, M.C.; MORGENNI, F.; MAZZI, G.; VENCIERI, F.F. Evaluation of chemical stability of St. John's wort commercial extract and some preparations. *International Journal of Pharmaceutics*. Amsterdam, v. 213, p. 199-208, 2001.

BORGES, L.; SCILIAR, M.; ALMEIDA, S. Biodiversidade brasileira e produtos industriais, Belo Horizonte: UFMG, 2003. Disponível em <http://www.icb.ufmg.br/~ibem/aulas/grad/tge/biodiv/2002/prodindust/>. Acesso em 12 nov.2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretora Colegiada nº 17, de 24 de fevereiro de 2000. Aprova o regulamento técnico sobre registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 2002.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução Diretora Colegiada nº 48, de 16 de março de 2004. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Revoga a RDC nº 17, de 24/02/2000. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, 18 de março de 2004, Brasília, 2002.

CARSTENSEN, J.T. Drug stability: principles and practices. 2. ed. New york: Dekker, 1995.

CARVALHO, J.C.T. Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas. Tecmed. São Paulo, 2004.

CHORILLI, M.; ZAGUE, V.; SCARPA, M. V.; LEONARDI, G. R. Influência da viscosidade do veículo na liberação in vitro da cafeína. Revista Eletrônica de Farmácia. Vol. IV (1), 52-60, 2007.

CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. CLSI document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. CLSI. 2003.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. Introdução a métodos cromatográficos. 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997.

CORRÊA, M. P. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. Ministério da Agricultura, IBDF, vol. 1,1984.

CORRÊA, N. M.; CAMARGO JÚNIOR, F. B.; IGNÁCIO, R. F.; LEONARDI, G. R. Avaliação do comportamento reológico de diferentes géis hidrofílicos. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. Vol. 41, n.1, jan/mar., 2005.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia – um breve ensaio. Química Nova na Escola. V. 7, p.21-23, 1998.

DEUTSCHES Arzneibuch 10. Ausgabe. Frankfurt: Deutsches Apothker, 1992.

DEVIA, B.;LLABRES, G.; WOUTERS, J.; DUPONT, L.; ESCRIBANO-BAILON, M.T.; DE PASCUAL-TERESE, S.; ANGENOT, L.; TITS, M. New 3-deoxyanthocyanidins from leaves of *Arrabidaea chica*. Phytochemical Analysis, 13(2), 114-1120, 2002.

ELVIN-LEWIS, Memory. Should we be concerned about herbal medicines? *J. Ethnopharmacol.*, Amsterdam, v.75, p.141-164, 2001.

ESTRELA, E. Tratado de Cooperacion Amazonica – Secretaria Protempore, Plantas medicinales Amazonicas: Realidad Y Perspectivas, Lima: TCA, 1995, 302p.

FANG, I.; HWANG, T.L.; LEU, Y. L. Effect of enhancers and retarders on percutaneous absorption of flurbiprofen from hidrogels, International Journal of Pharmaceutics, Amsterdam, v. 250, p. 313-325, 2003.

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

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2 ed. São Paulo: Gráfica Siqueira, 1959

FELSNER, M. L.; MATOS, J. R. Análise da Estabilidade Térmica e Temperatura de Oxidação de Óleos Comestíveis Comerciais por Termogravimetria. Anais da Associação Brasileira de Química, v. 47, n. 4, p. 308=318, 1998.

FENNER, R.; BETTI, A.H.; MENTZ, L.A.; RATES, S.M.K. Plantas utilizadas na medicina popular brasileira com potencial atividade antifúngica. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. vol. 42, n.3, jul./set., 2006.

FERREIRA, A.O. Guia prático da farmácia magistral. 2ª ed. Juiz de Fora. Pharmabooks, 2002.

GENARO, A.R. (Ed.). Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

GIOLITO, I.; IONASHIRO, M. Nomenclatura em análise térmica: Parte II. Cerâmica, São Paulo, v. 34, p 163-164, 1988.

GRENARD, P. et al. Pharmacopees traditionelles em Guyana. – Paris: L'orstom, 1987. p.457.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in Plants: The link Between phytochemistry and Medicine. Phytochemistry, Oxford, v. 30, n. 12, p. 3864 – 3874, 1991.

IONASHIRO, M.; GILITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. Cerâmica. São Paulo, v. 26. p. 54-75, 1988.

ITO, R. T. SILVA, A.R.Q. PIMENTEL, I.R. SOLER, O. ROCHA, J.C.S.KO, R.J. Causes, epidemiology, and clinical evaluation of suspected herbal poisoning. *Clin. Toxicol.*, New York, v.37, n.6, p.697-708, 1999.

KARTAL, M. et al. Antimicrobial activity of propolis simples from two different regions of Anatolia. Journal of Ethnopharmacology, v.86, p. 69-73, 2003.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C.; LIMA, M.T.R.; GODINHO, R. O.; LIMA, T.C.M. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais – Farmacognosia da Planta ao Medicamento, Porto Alegre: Editora da UFRGS, 1999, p.181 – 196.

LACHMANN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J.L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. V. 2, cap. 27, p. 1357 – 1439.

LEONARDI, G.R. Influência do ácido glicólico na penetração cutânea da vitamina A palmitato e na estabilidade física de formulações dermocosméticas. 1997. 114p. Dissertação (Mestrado) Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

LEONARDI, G.R.; MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Estabilidade de formulações cosméticas. Int. J. Pharm. Compounding, v.3.n.4, p.154-156, 2001.

LIMA, A.; RODRIGUES, M.R.; MACHADO, A.E.H.; SEVERINO, D.; HIOKA, N.; GEROLA, A.P.; BATISTELA, V.R.; GRACETTO, A.; OLIVEIRA, H.P.M. Propriedades espectroscópicas de feolitina e clorofila a. In: XI Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e VII Encontro Latino Americano de Pós-Graduação. S. José dos Campos.: UviVap, 2007.

LIMA, M.R.F. et al. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. Journal of Ethnopharmacology, v.105, p. 137-147, 2006.

LOPES, D.C.D.X.P.; FREITAS, Z.M.F.; SANTOS, E.P.; TOMASSINI, T.C.B. Atividades antimicrobiana e fototóxica de extratos de frutos e raízes de *Physalis angulata* L. Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 16, n. 2: 192 – 196, Abr./ Jun. 2006.

MACEDO, R.O.; NASCIMENTO, T.G. Thermal characterization of lapachol by means of TG and DSC coupled to a photovisual system. J. Therm. Anal. Caorim., v.64, p. 751-756, 2001.

MAIA CAMPOS, P.M.B.G. Bases dermocosméticas. Revista de Cosmiatria & Medicina Estética. P.32-35, 1994.

MAIA CAMPOS, P. M. B. G.; BONTEMPO, E.M.B.G.; LEONARDI, G.R. Formulário Dermocosmético. São Paulo: Tecnopress Editora e Publicidade, 1999. v.2, p.37-38.

FISPQ - MAKENI – Checimal Comércio e Produtos Químicos Ltda. Disponível em: <http://www.makeni.com.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

MARTIN, A. Physical pharmacy. 4^a. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993.

MARTINS, E. R.; CASTRO, D. M.; CASTELLANI, D. C.; DIAS, J. E. Plantas Medicinais. Viçosa: UFV, 1994, 200p.

MASTERS, K., Spray drying handbook. Logman, Harlow, England, 1991.

MIGLIATO, K.F.; MOREIRA, R.R.D.; MELLO, J.C.P.; SACRAMENTO, L.V.S.; CORRÊA, M.A.; SALGADO, H.R.N. Controle de qualidade de fruto de *Syzygium cumini*(L.) Skeels. Revista Brasileira de Farmacognosia. V. 17 (1). P-94-101. Jan/Mar 2007.

MURA, P.; MURA, P.; FAUCCI, M.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. J. Pharm. Biomed. Anal., v.18, p. 151-163, 1998a.

OLIVEIRA, G.G.G.; FERRAZ, H.G.; MATOS, J.D.R. Estudo termoanalítico de glibenclamida e alguns excipientes utilizados em formas farmacêuticas sólidas. In: 2º Congresso Panamericano de Análise térmica e Calorimetria. Poços de Caldas, 2004.

OLIVEIRA, F.; AKISUE, K.; AKISUE, M.K. Farmacognosia. Ed. Atheneu, pág. 69-9, 1998.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J. Biol.* 31: 53-58. 2007

PEDDROSA, R. C.; YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Química Nova*, vol.24. n.1, p. 147-152, 2001.

PAULLETTI, P. M.; BOLZANI, V. S.; YUNG, M. C. M. Constituintes químicos da *Arrabidaea* (Bignoniaceae). *Química Nova*, v. 26, n. 5, set/oct. 2003.

PETROVICH, P.R.; JACOB, M.; GAUDY, D.; LOPES, C. H. C. Extratos secos por nebulização: avaliação cromatográfica de *Maytenus ilicifolia* Martius Ex. Reiss. – Celastraceae. *Caderno de Farmácia*, v. 7, p. 52-54, supl., 1991a.

PHARMASPECIAL – Especialidades Químicas e Farmacêuticas Ltda. Disponível em: <http://www.pharmaspecial.com.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Polymers in drug delivery. *Current Opinion in Chemical Biology*, London, v.5, p. 447-451, 2001.

PINHO, J.J.R.G. Desenvolvimento de comprimidos de cloridrato de metformina de liberação convencional e modificada: influência dos excipientes sobre o perfil de dissolução e avaliação termoanalítica. 215f. Tese (doutorado em

Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP, São Paulo, 1999.

POTTS, R.O.; GUY, R.H. Visualization of stratum corneum and transdermal permeation pathways. In: TURNER, N.G.; NONATO, L.B. Mechanisms of transdermal drug delivery. New York: Dekker Press, 1997. cap.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C., MORGADO, R. Tecnologia Farmacêutica. Fundação Calouste Gulbenkian, V.2, 4 ed. Lisboa, 1996.

PUHL, M.C.M.N.; MILANEZE-GUTIERRE, M.A.; NAKAMURA, C.V.; CORTEZ, D.A.G. Morfoanatomia da folhas e dos caules jovens de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verlt. (Bignoniaceae). Latin American Journal of Pharmacy. 26 (2):224-9, 2007.

RADEBAUGH, G.W. Rheological and mechanical properties of dispersed systems. In: LIBERMAN, H.A.; RIEGER, M.M.; BANKER, G.S.; Pharmaceutical dosage forms: disperse systems. 2. ed. New York, Marcel Dekker, 1996. cap. 5, p. 153-209.

RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. Toxicon, Amsterdam, v.39, p.603-613, 2001.

RIEGER, M.M. Testes de estabilidade para macroemulsões. Cosmetics & Toiletries, v.8, p.47-53, 1996.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. p.1-14.

SALGADO, H.R.N.; RIBEIRO, Y.A.; RIBEIRO, C.A.; SCHAPOVAL, E.E.S. Análise térmica de esparfloxacino. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada. Vol. 26, n 2, p.119-123, 2005.

SANTOS, S.C. *et al.* Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(2): 215-219. 2007.

SBRT – Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas. Disponível em: <http://www.sbrt.ibict.br>. Acesso em 10 de maio de 2008.

SCHULZ, V.; HÄNSEL, R.; TYLER, V.E. Medicinal plants, phytomedicines, and phytotherapy. In: _____. *Rational phytotherapy: a physician's guide to herbal medicine*. 4.ed. New York, Berlin: Springer, 2001. cap.1, p.1-39.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; PETROVICK, P.R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; OSMANN, G.M.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R., orgs. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 2.ed. Florianópolis. UFSC; Porto Alegre: UFRGS, 2000. cap.15, p.291-320.

SCHNITZLER, E.; PEREIRA, C.A.; CARVALHO FILHO, M.A.S. Estudo termoanalítico (TG, DTG e DSC) dos cafés *in natura* e processados. Publicatio UEPG. Ciências exatas e da terra, ciências agrárias e engenharias. Ponta Grossa, v. 11, n. 1, p. 61-66, 2005.

SCHNITZLER, E.; BENINCA, C.; KOBELNIK, M.; SOTELO, G.F.C.; CARNEIRO, P.I.B. Estudo, caracterização e determinação do grau de pureza de amostra comerciais de sacarina. Publicatio UEPG. Ciências exatas e da terra, ciências agrárias e engenharias. Ponta Grossa, 2005.

SHARAPIN, N. Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. Cytel, Santafé de Bogotá, 2000. p.145-157.

SIDRIM, J.J.C.; DIÓGENES, M.J.N.; PAIXÃO, G.C. *Dermatofitose*. In: SIDRIM, J.J.C.; MOREIRA, J.L.B. *Fundamentos clínicos e laboratoriais da micologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. p. 108-131.

SILVA JÚNIOR, José Otávio Carréra. Aplicação do diagrama ternário água – tensoativo – óleo no desenvolvimento de formulações farmacêuticas e/ou cosméticas. Dissertação de mestrado / FCFRP – USP. 2000.

SILVA JÚNIOR, J.O.C.; VIEIRA, J.L.F.; BARBOSA, W.L.R.; PEREIRA, N.L. Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.16 (supl.): Dez. 2006.

SILVA JÚNIOR, José Otávio Carréra. Obtenção e avaliação de forma farmacêutica semi-sólida fitoterápica contendo extrato seco por nebulização de *Symphytum officinale* L. (confrei). Tese de doutorado / FCFRP- USP. 2006.

SOBRINHO, J.L.S. Sistemas de vetorização de fármacos para comprimidos de liberação clássica e prolongada a base de benznidazol. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

SOUZA, F.S.; MACEDO, R.O.; VERAS, J.W.E. Studies of cimetidine pre-formulated and tablets for TG and DSC coupled to the photovisual system. Thermochim. Acta, v. 392-393, p. 99-106, 2002.

STULZER, H.K.; TAGLIARI, M.P. Avaliação da compatibilidade entre a fluoxetina e excipientes usados na fabricação de cápsulas pela farmácia magistral. Visão Acadêmica. Curitiba, v.7, p. 15-23, 2006.

TAGLIARI, M.P.; STULZER, H.K.; KELMANN, R.G.; KUMINEK, G.; SILVA, M.A.S. Estabilidade térmica e compatibilidade da hidroquinona. Revista Cosmetics & Toiletries. Vol.20, nº2, 2008.

TAKEMURA, O. S. A flavone form leaves of *Arrabidaea chica f. cuprea*. Phitochemistry, Oxford, v. 38, n 5. p. 1299-1300, mar. 1995.

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 42, n.2, abr/jun.,2006.

TYLER, V.E. Natural products and medicine: an overview. In: BALICK, M.J.; ELISABETSKY, E.; LAIRD, S.A., eds. *Medicinal resources of the tropical forest, biodiversity and its importance to human health*. New York: Columbia University Press, 1996. p.3-10. (Biology and resource management series).

VALENTA, C.; WANKA, M.; HEIDLAS, J. Evaluation of novel soya-lecithin formulations for dermal use containing ketoprofen as a model drug. *Journal of Controlled Release*. Amsterdam, v. 63, p. 165-173, 2000.

VASCONCELOS, E. A. F.; MEDEIROS, M. G. F.; RAFFIN, F. N.; MOURA, T.F.A.L. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius Raddi* (Anacardiaceae), *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. Brasil, v. 15 (3), p. 243 – 249, 2005.

VIANA, L. Espectroscopia de infravermelho. Disponível em http://pt.wikipedia.org/wiki/Espectroscopia_de_infravermelho. Acesso em 09 mai. 2008.

VILA JATO, J.L. Tecnologia Farmacêutica: formas farmacêuticas. Madrid. Editora Síntesis. Vol. 1-2. 2001.

YUNES, A. R.; PEDROSA, C.R.; FILHO, C. V. Fármacos e fitoterápicos: A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. *Quim. Nova*. Vol. 24, n.1, p. 147 – 152, 2001.

ZARONI, M. Polissacarídeos no desenvolvimento de peletes de teofilina de liberação colônica. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Paraná, 2006.

ZORN, B.; GARCIA-PINERES, A.J.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; MORA, G.;
MERFORT, I. Desoxyanthocianidins from *Arrabidaea chica*. *Phytochemistry*.
56(8), 831-835, 2001.