

JACKELINE TAVEIRA CANGUSSÚ

**ESTUDO DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE GELATINA DURA
CONTENDO GINSENG EM DIFERENTES FORMULAÇÕES**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Setor de Ciências da Saúde, do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Pontarolo

CURITIBA

2002



PARECER

A Comissão Examinadora indicada pelo Colegiado do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas para julgar e avaliar a dissertação de mestrado "**Estudos de dissolução de cápsulas de gelatina dura contendo ginseng em diferentes formulações**", de autoria da pós-graduanda *Jackeline Taveira Cangussú*, composta pelos Professores: Dr. Roberto Pontarolo (Orientador/Presidente); Dr^a Tânia Mari Bellé Bresolin (Universidade do Vale do Itajaí) e o Titular José Domingos Fontana (UFPR).

A Comissão Examinadora aprova a dissertação com nota 9,33 (nove inteiros e trinta e três centésimos), conceito "A" e recomenda sua publicação após as correções sugeridas, que serão conferidas pelo orientador.

Curitiba, 21 de novembro de 2002.

Prof. Dr. Roberto Pontarolo

Prof^a Dr^a Tânia Mari Bellé Bresolin

Prof. Tit. José Domingos Fontana

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Alceu (in memoriam) e Olivania

Que me deram a vida e o imenso

Orgulho de ser sua filha

À minha VÓ NENEM (in memoriam)

Que soube transmitir toda força e

Coragem para não desistir nunca

À minha amiga Clélia, pelo exemplo de

Justiça , Caráter profissional, Oportunidade

E Amizade que me deu forças para prosseguir

*A DEUS NOSSO SENHOR QUE ME DEU SAÚDE e FORÇAS PARA
SUPERAR OS PIORES MOMENTOS.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Roberto Pontarolo, pela amizade, compreensão, e orientação que muito contribuiu pela minha formação como pesquisadora.

Ao Prof. Dr. Cid Aimbiré, pela colaboração em momentos importantes do desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Arion Zandoná Filho, pela amizade, conselhos, estímulos e o interesse pela pesquisa.

À Prof. Dr.^a Tania Bellé Bresolin, pela acolhida, carinho e atenção.

À Prof. Dr.^a Mayumi Eliza Otsuka Sato, pela amizade, incentivo em muitos momentos.

À Prof. Dr.^a Maria Rita Sierakowski, do Departamento de Química da UFPR pela sua gentileza em ceder alguns equipamentos para realização de experimentos.

Ao Prof. Itamar Francisco Andreazza, pelos conhecimentos transmitidos e sua disponibilidade.

Ao TECPAR - Instituto de Tecnologia do Paraná por apoiar esta pesquisa e investir na qualificação do seu funcionário, em especial à Clelia Pinheiro Lima Rubini, Bill Jorge e Maria Luiza Halila que me apoiaram em todos os momentos e também aqueles colegas que sempre me incentivaram, Ana Paula, Claudine, Cezar Lenz, Guilherme Zemke, Jorge Takeda, Ismael Oliveira, Marcelo, Marco, Natalício, Rilton, Vera Kamienski.

Aos amigos do CEPPA – Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, pela amizade demonstrada em especial a Ariene e ao José Laurentino (Zé).

À Elaine Aparecida Biss por toda atenção e dedicação.

À Luper, na pessoa do Sr. Sussumu Konish pelo fornecimento do Extrato Pulverizado de Ginseng.

Ao Rodrigo pela sua dedicação, paciência e carinho em todos os momentos.

Foram tantos momentos que passei na companhia de amigos, momentos esses que não podem ser descritos pois cada um tem a sua particularidade. Em Eclesiástico 6,14-15a diz que: **UM AMIGO FIEL É UMA PODEROSA PROTEÇÃO: QUEM O ACHOU, DESCOBRIU UM TESOURO. NADA É COMPARÁVEL A UM AMIGO FIEL.** Obrigada Andréa, Ana Cristina, Benilda, Clélia, Cristina (Cris), Cunha, Dayse, Geraldo, Ivania, João Luiz, José Laurentino, Klézia, Marilza, Maria Luiza (Malu), Maria Luiza (Luiza), Neide, Rodrigo, Shirley e Sueli. A minha melhor gratidão é trazer um pouco de cada um deles dentro de mim e levar os frutos de suas sementes para minha vida.

A minha família que me apoiou e soube compreender a falta de tempo até nos momentos mais sérios.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	VII
LISTA DE TABELAS.....	XI
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XIII
RESUMO.....	XIV
ABSTRACT.....	XV
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1 GINSENG.....	4
3.2 BIODISPONIBILIDADE E DISSOLUÇÃO.....	15
4.1 MATERIAIS.....	25
4.1.1 Substâncias Químicas de Referência.....	25
4.1.2 Formas Farmacêuticas Submetidas ao Ensaio de Dissolução.....	25
4.1.3 Reagentes e Materiais de Laboratórios.....	26
4.1.4 Equipamentos.....	26
4.2 MÉTODOS.....	28
4.2.1 Identificação do GP e EGP.....	28
4.2.1.1 Cromatografia em camada delgada.....	28
4.2.1.2 Espectroscopia de infravermelho.....	28
4.2.2 Preparo da Forma Farmacêutica – Cápsulas.....	29
4.2.2.1 Preparo das misturas.....	29
4.2.2.2 Determinação do volume aparente.....	29
4.2.2.3 Escolha do tamanho do invólucro (cápsula gelatina dura nº 04).....	30

4.2.3 Controle de Qualidade das Cápsulas.....	31
4.2.3.1 Determinação de peso.....	31
4.2.3.2 Dissolução.....	31
4.2.3.2.1 Preparo da solução padrão.....	32
4.2.3.2.2 Preparo da amostra.....	32
4.2.3.2.3 Critério de avaliação.....	32
4.2.3.3 Uniformidade de dose unitária.....	33
4.2.3.3.1 Preparo das curvas padrões.....	33
4.2.3.3.2 Preparo das soluções amostra.....	34
4.2.3.3.3 Critérios de avaliação.....	34
4.2.4 Preparo das Amostra para o Doseamento.....	34
4.2.5 Teor (Doseamento).....	37
4.2.5.1 Parâmetros de operação método A	38
4.2.5.2 Parâmetros de operação método B	38
4.2.6 Perfil de Dissolução.....	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO GINSENG PULVERIZADO (GP).....	41
5.2 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DO GP E EGP..	41
5.3 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO GP E EGP.....	44
5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS GINSENOSÍDEOS DO GP E EGP POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).....	46
5.5 CONTROLE DE QUALIDADE DAS CÁPSULAS.....	59
5.6 PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO GP.....	65
5.7 DISSOLUÇÃO DAS CÁPSULAS DO GP E EGP.....	74
6 CONCLUSÕES.....	78
REFERÊNCIAS.....	80
ANEXOS.....	88

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – RAÍZES PRINCIPAIS E RAÍZES LATERAIS DO GINSENG.....	4
FIGURA 2 – RAÍZES DE GINSENG: RAÍZES CILÍNDRICAS, COM RUGOSIDADE TRANSVERSAL NA PARTE SUPERIOR.....	5
FIGURA 3 – NÚCLEOS FUNDAMENTAIS DAS SAPONINAS TRITERPÊNICAS DO GINSENG (PROTOPANAXADIOL E PROTOPANAXATRIOL.....	6
FIGURA 3 – NÚCLEOS FUNDAMENTAIS DAS SAPONINAS TRITERPÊNICAS DO GINSENG (PROTOPANAXADIOL E PROTOPANAXATRIOL.....	7
FIGURA 4 – DISSOLUÇÃO E ABSORÇÃO DO FÁRMACO NO ORGANISMO. TGI = TRATOGASTROINTESTINAL; K_d = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE DISSOLUÇÃO; K_a = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE ABSORÇÃO; K_e = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE ELIMINAÇÃO; P = PROTEÍNA PLASMÁTICA.....	17
FIGURA 5 – FLUXOGRAMA DO PREPARO DA AMOSTRA PARA INJEÇÃO NO CROMATÓGRAFO.....	36
FIGURA 6 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DO GINSENG PULVERIZADO (GP E EXTRATO DE GINSENG PULVERIZADO 9EGP CONTRA OS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS MAIS USUAIS: 1- Re; 2- Rg ₁ ; 3- Rb ₂ ; 4- EGP; 5- GP; 6- Rc; 7- Rb ₁ ; 8- Rd.....	43
FIGURA 7 – ESPECTRO VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO EGP.....	44
FIGURA 8 – ESPECTRO VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO GP.....	45
FIGURA 9 – ESPECTROS VIBRACIONAIS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS.....	45

FIGURA 10 – CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re; Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ e Rd, OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO A, DESCRITO EM 4.2.5.1.....	47
FIGURA 11 – CROATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS INDIVIDUALMENTE INJETADOS E SEUS RESPECTIVOS TEMPOS DE RETENÇÃO: Re – 2,188 min.; Rg ₁ – 2,200 min.; Rb ₁ – 3,682 min.; Rc – 4,280 min.; Rb ₂ – 5,168 min.; Rd – 8,163 min. OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B, DESCRITO EM 4.2.5.2.....	48
FIGURA 12 – CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re; Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ e Rd NA CONCENTRAÇÃO 0,500 mg/mL OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B, DESCRITO EM 4.2.5.2.....	49
FIGURA 13 – CROMATOGRAMA DO GP (MÉTODOB).....	50
FIGURA 14 – CROMATOGRAMA DO EGP (MÉTODOB).....	50
FIGURA 15 – CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re; Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ e Rd NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,125 mg/mL, 0,250 mg/mL e 0,500 mg/mL, OBTIDOS ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B, DESCRITO EM 4.2.5.2.....	52
FIGURA 16 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS Re+Rg ₁ , NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM METODOLOGIA B.....	54

FIGURA 17 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R _{b1} , NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM METODOLOGIA B.....	54
FIGURA 18 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R _c , NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM METODOLOGIA B.....	55
FIGURA 19 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R _{b2} , NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM METODOLOGIA B.....	55
FIGURA 20 – REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R _d , NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM METODOLOGIA B.....	56
FIGURA 21 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE GP NOS MEIOS (1) HCl – 0,2 mol/L, pH 0,9; (4) SOLUÇÃO TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO 0,2 mol/L, pH 6,6; (5) SOLUÇÃO TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO 0,2 mol/L, pH 7,6; (6) ÁGUA DESTILADA, pH 6,8 E (7) SOLUÇÃO DE SÖRENSEN, pH 5,7 E ABSORBÂNCIA DETERMINADA A 203 nm.....	66
FIGURA 22 – CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA, DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS CONTENDO PÓ DA RAIZ DO GINSENG, PARA AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DOS GINSENOSÍDEOS EM DIFERENTES pHs, PARA ESCOLHA DO MEIO A SER UTILIZADO NO TESTE DE DISSOLUÇÃO. SOLVENTE DE CORRIDA: CLOROFÓRMIO : METANOL : ÁGUA (70:30:4). REVELADOR: VANILINA FOSFÓRICA. AMOSTRAS CROMATOGRAFADAS: 1-HCl (pH 0,9); 2-TAMPÃO SÖRENSEN (pH 5,7); 3-TAMPÃO FOSFATO (pH 6,6); 4-EGP; 5- ÁGUA DESTILADA (pH 6,8); 6- TAMPÃO FOSFATO (pH 7,6).....	67

FIGURA 23 – CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ E Rd) NO MEIO SÖRENSEN pH 5,7.....	69
FIGURA 24 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ E Rd) NO MEIO H ₂ O pH 6,8.....	70
FIGURA 25 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ E Rd) NO MEIO TAMPÃO pH 6,6.....	70
FIGURA 26 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ E Rd) NO MEIO TAMPÃO pH 7,6.....	71
FIGURA 27 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg ₁ ; Rb ₁ ; Rc; Rb ₂ E Rd) NO MEIO HCl pH 0,9.....	71
FIGURA 28 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DO GP EM ÁGUA pH 6,8 E ABSORBÂNCIA A 203 nm.....	72
FIGURA 29 - PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE GINSENOSÍDEOS DE CÁPSULA DE GP EM ÁGUA pH 6,8 QUANTIFICADOS POR CLAE METODOLOGIA A, ABSORBÂNCIA Á 203 nm, ROTAÇÃO DO SISTEMA 75 rpm.....	74

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS UTILIZADAS NA FORMULAÇÃO A E B.....	29
TABELA 2 – TAMANHOS DAS CÁPSULAS.....	30
TABELA 3- CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS UTILIZADAS NO MÉTODO A	38
TABELA 4 – VALORES DE R _f s ENCONTRADOS PARA OS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS.....	42
TABELA 5 – LEITURAS DE ÁREAS ENCONTRADAS PARA OS GINSENOSÍDEOS NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,125 mg/mL, 0,250 mg/mL E 0,500 mg/mL, À PARTIR DO CROMATOGRAMA APRESENTADO NA FIGURA 15.....	53
TABELA 6 – CONCENTRAÇÕES DOS GINSENOSÍDEOS DETERMINADAS SEGUNDO CLAE – MÉTODO B NA AMOSTRA DO EGP.....	57
TABELA 7 - CONCENTRAÇÕES DOS GINSENOSÍDEOS DETERMINADAS SEGUNDO CLAE – MÉTODO B NA AMOSTRA DO GP.....	57
TABELA 8 – PARÂMETROS DE QUALIDADE PARA O EGP.....	58
TABELA 9 – PARÂMETROS DE QUALIDADE PARA O GP.....	59
TABELA 10 – RESULTADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DE PESO DE CÁPSULAS CONTENDO O PÓ DA RAIZ DE GINSENG E EXTRATO SECO COM DIFERENTES EXCIPIENTES.....	61
TABELA 11 – RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO GP.....	62
TABELA 12 - RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO EGP-LACTOSE.....	63
TABELA 13 - RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO EGP-CELULOSE.....	64

TABELA 14 – LEITURAS DE ÁREAS PARA GINSENOSÍDEOS NOS MEIOS UTILIZADOS PARA O ENSAIO DE PERFIL DE DISSOLUÇÃO.....	68
TABELA 15 – PORCENTAGEM DE CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE GP EM ÁGUA.....	75
TABELA 16 – PORCENTAGEM DE CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE EGP-LACTOSE EM ÁGUA.....	75
TABELA 17 – PORCENTAGEM DE CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE EGP-CELULOSE EM ÁGUA.....	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ASC	Área sob a curva de concentração plasmática <i>versus</i> tempo
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CEE	Comunidade Econômica Européia
C_{max}	Concentração plasmática máxima atingida após a administração da dose
EGP	Extrato de Ginseng Pulverizado
FDA	Food and Drug Administration
GP	Ginseng Pulverizado
IR	Espectro de Infravermelho
K_a	Constante de Velocidade de Absorção
K_d	Constante de Velocidade de Dissolução
K_e	Constante de Velocidade de Eliminação
P	Proteína Plasmática
rpm	Rotações por minuto
SNC	Sistema Nervoso Central
TGI	Tratogastrointestinal
T_{max}	Tempo em que ocorre C _{max}

RESUMO

Um grande número de fármacos de origem vegetal são, em geral, comercializados na forma farmacêutica de cápsulas de gelatina dura. A droga vegetal antes de ser encapsulada é submetida a diferentes tratamentos, podendo ainda ser acrescida de diversos diluentes, o que origina produtos de composição química diferentes. As diferentes composições químicas podem alterar de modo significativo as características de dissolução dos metabólitos com atividade farmacológica e inclusive comprometer a eficácia. O objetivo deste trabalho foi o de realizar um estudo comparativo de dissolução de cápsulas de gelatina dura contendo raiz de ginseng pulverizado (GP) e extrato pulverizado de ginseng (EGP) diluído com lactose e celulose. As cápsulas foram inicialmente analisadas quanto aos parâmetros de qualidade: determinação de peso, doseamento e uniformidade de conteúdo em ginsenosídeo, os quais foram satisfatórios. Nas cápsulas contendo ginseng pulverizado, foi realizado um estudo de perfil de dissolução empregando-se diferentes meios (HCl - 0,2 mol/L, pH 0,9; Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 3,6; Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 5,6; Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 6,6; Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 7,6; Água destilada, pH 6,8 e Solução de Sörensen, pH 5,7). Aliquotas desses meios foram coletadas nos intervalos de tempo de 15, 30, 45 e 60 minutos e analisadas quanto à dissolução de ginsenosídeos por UV e CLAE. Os maiores valores de absorção na espectrofotometria de UV-Vis a 203 nm, e possivelmente a maior solubilidade dos ginsenosídeos ocorreram nos meios próximos da neutralidade (tampão fosfato pH 6,6 e 7,6 e água pH 6,8). O estudo de dissolução para as diferentes formulações foi realizado em aparelho Erweka, conforme especificado pela USP 24 e Farmacopéia Brasileira IV. Os resultados desse estudo mostraram que as cápsulas de ginseng pulverizado apresentaram uma porcentagem de cedência menor do que as cápsulas de extrato pulverizado de ginseng refletindo a necessidade da realização destes estudos também para produtos fitoterápicos.

ABSTRACT

A great number of medicines from vegetal sources is, in general, traded as pharmaceutical capsules of hard gelatin. The vegetal drug, before encapsulation, is submitted to different treatments and several dilutors can also be added to it, resulting products of different chemical composition, what can significantly alter the dissolution characteristics of the metabolites having a pharmacological activity, affecting their effectiveness. The aim of this work was to perform a comparative study on the dissolution of hard gelatin capsules containing powdered ginseng root (GP) and powdered ginseng root extract (EGP) diluted with lactose and cellulose. The capsules were firstly analyzed to their quality parameters: weight determination, dosage and content uniformity of ginsenosides, with satisfactory results. An study of the dissolution profile was accomplished in the capsules containing powdered ginseng, using different media (HCl – 0.2 mole/L, pH 0.9; Buffer Solution of Potassium Phtalate 0.2 mole/L, pH 3.6; Buffer Solution of Potassium Phtalate 0.2 mole/L, pH 5.6; Buffer Solution of Potassium Phosphate 0.2 mole/L, pH 6.6; Buffer Solution of Potassium Phosphate 0.2 mole/L, pH 7.6; Distilled water, pH 6.8 and Sörensen Solution, pH 5.7). Aliquots from such solutions were taken at time intervals of 15, 30, 45 and 60 minutes and were analyzed to the dissolution of ginsenosides for UV and HPLC. The highest absorption values obtained from UV spectrometry at 203nm, and possibly the highest solubility of ginsenosides, occurred in media with pH close to neutrality (phosphate buffer pH 6.6 and 7.6 and water pH 6.8). The dissolution test for the different formulations was accomplished in an Erweka equipment, according to USP 24 and Brazilian Pharmacopeia IV. The results of such study revealed that the powdered ginseng capsules had a smaller ceding percentage than that of ginseng powder extract, so reflecting the need to also extend this study to phytotherapy products.

1 INTRODUÇÃO

A qualidade dos produtos farmacêuticos é uma preocupação constante dos órgãos sanitários de todos os países. O serviço público é responsável pela definição dos parâmetros de qualidade, bem como pela fiscalização do seu cumprimento. É obrigação da indústria farmacêutica o cuidado rigoroso com a qualidade e a segurança dos seus processos e produtos (REIS, et al. 1999).

De acordo com a Lei 6.360/76, o controle de qualidade é o conjunto de medidas destinadas a verificar a qualidade de cada lote de medicamento e demais produtos, para que satisfaçam as normas de atividade, pureza, eficácia e inocuidade (BRASIL, 1976; BRASIL, 1977).

As especificações farmacopeicas regulam as relações com o comércio exterior (importação e exportação), como requisitos mínimos da qualidade da matéria-prima e especialidades farmacêuticas produzidas no país, servindo ainda, como parâmetros para as ações de vigilância sanitária (REIS, et al. 1999).

Muitas drogas vegetais à venda no comércio têm-se revelado mal preparadas ou em condições impróprias para o consumo. Essa situação se agrava à medida que grande parte delas é comercializada como fitoterápicos, considerados medicamentos pela população ou pelas autoridades sanitárias.

No Brasil, a busca do uso idôneo dos medicamentos fitoterápicos encontrou respaldo na Portaria 123, de 19/10/94, quando a Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde introduziu a normalização do registro dos fitoterápicos. A regulamentação do registro de produtos fitoterápicos para fins comerciais, através da Portaria MS/SNVS n.º 6 de 31/01/95 (D.O.U. de 06/02/95), é uma demonstração da postura atual do Estado na tentativa de assegurar a organização da produção e comércio de produtos fitoterápicos no Brasil (MICHILES, 1996).

Os fitoterápicos estão disponíveis sob as mais variadas formas farmacêuticas (sólidas, semi-sólidas e líquidas entre outras) sendo que estas formas farmacêuticas são preparadas a partir da droga pulverizada e de extratos.

A eficácia terapêutica destas especialidades depende de várias etapas, agrupadas em três fases: a fase biofarmacêutica, a fase farmacocinética e a fase farmacodinâmica. A primeira fase, comporta as etapas de disponibilização dos princípios ativos no organismo (LE BLANC et al. 1997). Na administração extravascular de uma forma farmacêutica sólida, a primeira etapa da disponibilização do princípio ativo é a liberação do mesmo. Essa liberação pode ocorrer rapidamente, no caso de uma forma farmacêutica de liberação rápida, ou lentamente, no caso de uma forma de liberação prolongada. A segunda fase, chamada fase farmacocinética, corresponde à transformação, *in vivo*, do princípio ativo. É definida como estudo, em função do tempo, dos diferentes aspectos (absorção, distribuição e eliminação) de um princípio ativo no organismo. A terceira fase, dita fase farmacodinâmica, corresponde ao estudo da resposta resultante da interação de um princípio ativo e de um receptor. Essa resposta é uma componente do efeito terapêutico desejado. A farmacodinâmica é definida como o estudo dos efeitos bioquímicos e fisiológicos dos princípios ativos e dos seus mecanismos de ação.

O efeito terapêutico desejado e a intensidade da resposta farmacodinâmica de um produto fitoterápico dependem das concentrações das substâncias ativas no local de ação. A obtenção de concentração plasmática dentro de uma faixa dita terapêutica depende da escolha apropriada da forma farmacêutica e da modalidade de administração, tais como via de administração e intervalo entre as doses.

Assim, é importante escolher bem a forma farmacêutica e as modalidades de administração, para obter o efeito terapêutico desejado.(LE BLANC et al. 1997)

Até 1970 o teste de desintegração era o único teste oficial para avaliar a disponibilidade *in vitro* das formas farmacêuticas sólidas. Entretanto, o teste de desintegração não se relaciona diretamente com a biodisponibilidade dos fármacos

e não se preocupa em reproduzir exatamente as condições fisiológicas. O teste de dissolução surgiu com o desenvolvimento das pesquisas na área de biofarmácia, que demonstrou a necessidade de um parâmetro que melhor informasse sobre a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica em função do tempo (COHEN et al. 1990).

Atualmente, o teste de dissolução tem sido reconhecido pela sua importância no desenvolvimento de medicamentos. O teste não só permite determinar a taxa e a cedência do fármaco, como também assegurar a qualidade do medicamento (JU e LIAW, 1997). O teste de dissolução foi oficializado na Farmacopéia Americana em 1970, sendo então lá um requisito fundamental na indústria farmacêutica para o registro e controle de qualidade de formas farmacêuticas sólidas de uso oral.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a dissolução de cápsulas de gelatina dura contendo ginseng em diferentes formulações.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar ensaios de identificação e doseamento de ginsenosídeos no ginseng pulverizado e no extrato em pó de ginseng;
- Preparar cápsulas de gelatina dura contendo extrato em pó de ginseng em diferentes excipientes e analisá-las quanto a parâmetros de qualidade;
- Estudar o perfil de dissolução de cápsulas de gelatina dura contendo ginseng pulverizado;
- Realizar um estudo comparativo de dissolução, quanto ao teor de ginsenosídeos, em cápsulas de ginseng pulverizado e de extrato de ginseng pulverizado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 GINSENG

Ginseng é uma planta originária da Manchúria e Coréia do Norte utilizada na China há mais de 3000 anos como estimulante, tônico, diurético, estomáquico e é conhecido como elixir da longa vida (BARANOV AL., 1982).

Apresenta várias espécies *Panax* (*Araliaceae*), incluindo: *ginseng* Meyer, *quinquefolius* L., *notoginseng* (Burkhill) Hoo & Tseng. A e suas sinónimas *pseudoginseng* Wallich, *schinseng* Nees. A palavra “*panax*” significa panacéia. Tem como nome popular : ginseng; ginseng-coreano; ginseng-chinês; ginseng-americano; ginseng-canadense; jinsão; ginsão.

A parte utilizada é a raiz (Fig. 1 e 2), sendo que o ginseng branco é a raiz descascada e seca ao sol, enquanto o ginseng vermelho é a raiz com casca, cozida no vapor e seca.

FIGURA 1 – RAÍZES PRINCIPAIS E RAÍZES LATERAIS DO GINSENG



FONTE: LOGGIA (1993).

FIGURA 2 - RAÍZES DE GINSENG: RAÍZES CILÍNDRICAS, COM RUGOSIDADE TRANSVERSAL DA PARTE SUPERIOR



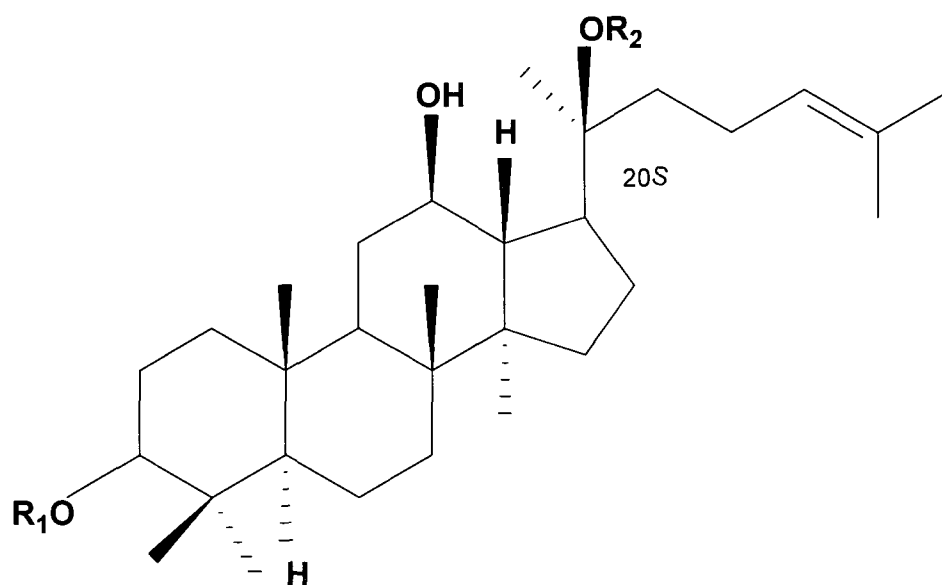
FONTE: LOGGIA (1993).

Os terpenóides são os constituintes principais do ginseng e correspondem à complexa mistura de compostos (ginsenosídeos ou panaxosídeos). Essa mistura é composta de três tipos estruturais de agliconas – duas sapogeninas tetracíclicas do tipo damarano (protopanaxadiol e protopanaxatriol, Fig.3) e um triterpeno pentacíclico do tipo do ácido oleanólico. Foram utilizadas diferentes nomenclaturas para esses compostos. No Japão, são conhecidos como ginsenosídeos e representados por R_x , onde “x” indica uma determinada saponina, por exemplo, R_a , R_{b-1} , R_c , R_d , R_{g-1} . Na Rússia as saponinas são chamadas de panaxosídeos e representadas como panaxosídeos X, onde “X” pode ser de A a F. Os sufixos nos dois sistemas não são equivalentes e, portanto, o panaxosídeo A não é igual a R_a .

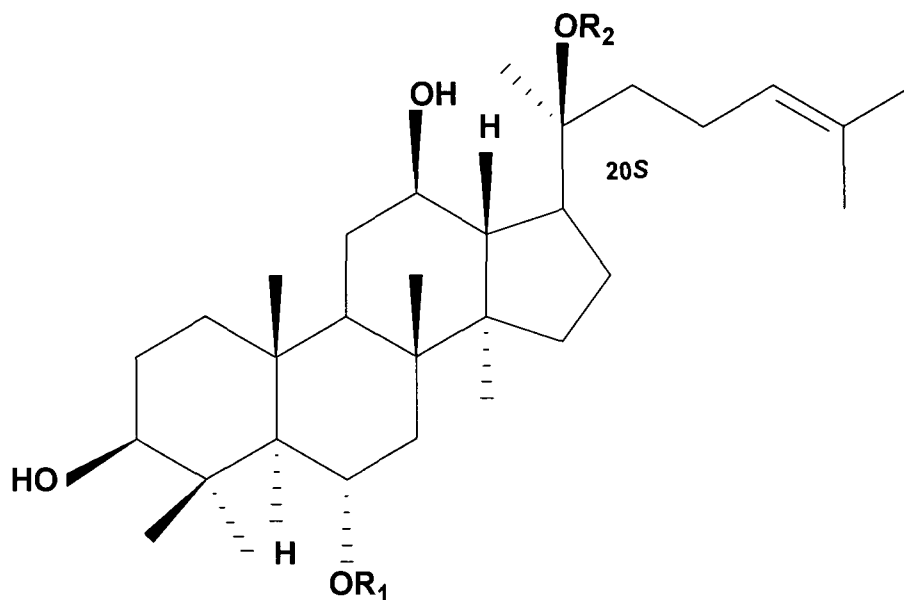
mas sim a R_{g-1}. (BALDWIN CA et al. 1986). O sistema japonês será adotado neste trabalho

O conteúdo saponínico varia entre as diferentes espécies de *Panax*. Por exemplo, os principais ginsenosídeos do *P. ginseng* são R_{b-1}, R_c, e R_{g-1}, ao passo que o único ginsenosídeo importante do *P. quinquefolius* é o R_{b-1} (BALDWIN et al., 1986).

FIGURA 3 – NÚCLEOS FUNDAMENTAIS DAS SAPONINAS TRITERPÊNICAS DO GINSENG (PROTOPANAXADIOL E PROTOPANAXTRIOL)



	R ₁		R ₂	
(20 S – Protopanaxadiol)	H		H	
Ginsenosídeo Rb ₁	β-D-Glu (1→2)	β-D-Glu	β-D-Glu (1→6)	β-D-Glu
Ginsenosídeo Rb ₂	β-D-Glu (1→2)	β-D-Glu	α-L-Arap (1→6)	β-D-Glu
Ginsenosídeo Rc	β-D-Glu (1→2)	β-D-Glu	α-L-Araf (1→6)	β-D-Glu
Ginsenosídeo Rd	β-D-Glu (1→2)	β-D-Glu	β-D-Glu	



	R ₁	R ₂
(20 S – Protopanaxatriol)	H	H
Ginsenosídeo Re	α -L-Rha (1→2)	β -D-Glu
Ginsenosídeo Rg ₁	β -D-Glu	β -D-Glu

FONTE:WAGNER (1996)

NOTA: GLU = GLUCOSE, ARAP = ARABINOPYRANOSE, ARAF = ARABINOFURANOSE, RHA = RHAMNOSE

Outro componente do ginseng é o óleo volátil (oligoelemento), consistindo principalmente de sesquiterpenos, como panaceno, limonemo, terpineol, cineol, α -felandreno e citral (CHUNG, 1976) álcoois sesquiterpênicos, incluindo os panasinsanóis A e B; ginsenol, (IWABUCHI, et al. 1989) poliacetilenos,(AHN, et al. 1989) esteróis, (especialmente pectinas e glicanos), (GAO et al., 1989) amido (8 a 32%), β -amilase, (YAMASAKI et al., 1989) açúcares livres, vitaminas (B₁, B₂, B₁₂, ácido pantotênico e biotina), colina (0,1 a 0,2%), lipídios e minerais.

Os álcoois sesquiterpênicos são componentes característicos do *Panax ginseng* e não estão presentes nos óleos voláteis de outras espécies (IWABUCHI, et al. 1988).

A terapia do ginseng geralmente é dividida em duas categorias: *curto prazo* – para melhorar o vigor, a concentração, o processo de cicatrização, a resistência ao stress, a vigilância e a capacidade de trabalho em indivíduos saudáveis, e *longo prazo* – para melhorar o bem-estar em quadros debilitantes e degenerativos, sobretudo os associados à velhice.

Seu uso é preconizado no tratamento de neurastenia, neuralgia, insônia, hipotonia e, em especial, estados depressivos associados com impotência sexual (BARANOV, 1982).

As doses recomendadas diferem entre o uso em curto prazo em indivíduos saudáveis e o uso em longo prazo em indivíduos idosos ou debilitados.

Curto prazo (para pessoas jovens e saudáveis) 0,5 a 1,0 g da raiz diariamente, em duas doses, em geral por um período de 15 a 20 dias e com um intervalo de cerca de duas semanas entre séries consecutivas. Recomenda-se que as doses sejam ingeridas pela manhã, duas horas antes do desjejum, e no final da tarde, pelo menos duas horas antes do jantar (BARANOV, 1982).

Longo prazo (para pessoas idosas e doentes) 0,4 a 0,8 g da raiz diariamente. As doses podem ser tomadas sem interrupção (BALDWIN, et al. 1986).

Os primeiros estudos sobre o ginseng, realizados na década de 50, revelaram sua capacidade de melhorar a resistência física e a capacidade mental tanto de animais como de seres humanos (BREKHMANN, 1967). As propriedades “tônicas” foram confirmadas pela observação de que doses ingeridas por um período prolongado melhoravam o bem-estar geral do indivíduo, efeito avaliado por vários parâmetros qualitativos, como apetite, sono e ausência de oscilações no humor, o que gerava maior eficiência no trabalho. Além disso, esses efeitos permaneciam por algum tempo após o término do tratamento (BREKHMANN, 1967). Foi observada

também atividade gonadotrópica, leve ação antiinflamatória e um efeito sobre o metabolismo de carboidrato(BREKHMANN, 1967). Desde então, vários estudos analisaram a complexa farmacologia do ginseng em animais e seres humanos. Os glicosídeos saponínicos (ginsenosídeos/panaxosídeos) são considerados os principais componentes ativos, embora algumas atividades farmacológicas tenham sido associadas a componentes não-saponínicos.

Em animais, muitas das atividades apresentadas pelo ginseng foram consideradas semelhantes às dos corticosteróides, e os resultados de estudos endocrinológicos indicam que os ginsenosídeos podem intensificar a esteroidogênese na supra-renal por meio de uma ação indireta sobre a glândula pituitária (LI et al., 1987). Sabe-se que os hormônios produzidos pelas glândulas pituitárias e supra-renal, desempenham um papel significativo no poder de adaptação do organismo (FILARETOV et al., 1988). A capacidade de trabalho é um dos índices utilizados para medir o poder de adaptação, e o ginseng aumentou a capacidade de trabalho em ratos após administração intraperitoneal única (132%) e por sete dias (179%). Além disso, quando o sistema pituitária-adrenocortical foi bloqueado pela administração anterior de hidrocortisona a administração de ginseng por sete dias diminuiu a redução da capacidade de trabalho (FILARETO et al., 1988).

Saponinas individuais obtidas de *Panax* apresentaram ações diversas na hemodinâmica cardíaca (MANREN et al., 1987). Por exemplo as saponinas R_g, R_{g-1} e as saponinas totais das flores aumentaram o desempenho cardíaco, enquanto as saponinas R_b e as saponinas totais das folhas produziram o efeito contrário; a R_b ofereceu proteção contra infarto do miocárdio experimentalmente em coelhos, mas a R_g não (MANREN et al., 1987). A fração total de saponinas não apresentou atividade hemolítica, porém, ginsenosídeos individuais apresentaram atividade hemolítica e protetora. Os ginsenosídeos protetores incluem R_c, R_{b-2} e R_e, enquanto as saponinas

hemolíticas incluem R_g , R_h e R_f (NAMBA et al., 1974). Há também registro de atividade hemostática (KOSUGE et al., 1981).

Uma fração total de ginsenosídeo inibiu a captação de vários neurotransmissores no sinaptossoma do cérebro de rato numa ordem descendente de gama-aminobutirato e noradrenalina, dopamina, glutamato e serotonina (TSANG et al., 1985). A fração que continha ginsenosídeo R_d foi mais eficaz. A captação de substratos metabólicos 2-desoxi-D-glicose e leucina foram afetadas apenas levemente e, portanto, aventou-se a hipótese de que os extratos estivessem agindo de forma central e não local como agentes ativos de superfície.

Estudos realizados em ratos indicaram que o tratamento profilático com ginseng impede o aumento dos receptores de dopamina no cérebro observados em condições de *stress* (SAKSENA et al., 1989).

Também o ginseng revelou propriedades antioxidantes e desintoxicantes (NAKAGAWA et al., 1985). Ginsenosídeos específicos (séries de ácido oleanólico e damarano) forneceram proteção contra hepatotoxicidade induzida por tetracloreto de carbono e galactosamina (NAKAGAWA et al., 1985; HIKINO et al., 1985). Entretanto, com doses maiores, certos ginsenosídeos de ambas as séries apresentaram atividade citotóxica simultânea (TSANG et al., 1985).

O extrato de *ginseng* (G115, Pharmaton, via oral) administrado a ratos revelou atividade antiviral (SAKSENA et al., 1989). O mesmo extrato também elevou o nível de proteção oferecido pelo 6-MFA, um agente indutor de interferon de origem fúngica (SINGH et al., 1983). Em estudos realizados *in vitro* e *in vivo*, induziu a produção de interferon e intensificou as atividades citotóxicas que dependem das células citotóxicas naturais e dos anticorpos em linfócitos periféricos humanos. Diante dessas observações, aventou-se a possibilidade de que a atividade antiviral do ginseng possa ser mediada imunologicamente (SINGH et al., 1983; SINGH et al., 1984).

Foram observadas em humanos, elevações nas concentrações séricas de colesterol total, HDL, triglicérides, ácidos graxos não-essenciais e lipoperóxidos em 67 pacientes hiperlipidêmicos que receberam doses diárias de 2,7 g de ginseng vermelho (LI e ZHANG, 1988). A adição de ginseng (3 g/65 Kg) ao consumo de álcool (72 g/65 Kg de etanol 25%) aumentou de 32% para 51%, a depuração de álcool no sangue (LEE et al., 1987).

Uma preparação contendo extrato de ginseng com multivitaminas e oligoelementos modificou alguns índices das funções metabólicas e hepáticas de pacientes idosos com hepatotoxicidade crônica induzida por álcool e fármacos (ZUIN et al., 1987). Os pacientes que receberam ginseng apresentaram aumento na excreção de sulfobromoftaleína (relacionada com a desintoxicação hepática) e melhora nas concentrações séricas de zinco (ZUIN et al., 1987).

Um estudo duplo-cego e controlado por placebo realizado com indivíduos sadios que receberam um extrato de ginseng (200 mg pó/dia durante 12 semanas) registrou efeito favorável em vários testes de desempenho psicomotor (atenção, processamento, função motora sensorial integrada e tempo de reação auditiva) (D'ANGELO et al., 1986). Não foram observadas diferenças nos testes de função motora pura e no tempo de reação visual e reconhecimento entre o grupo que tomou ginseng e o grupo de controle (D'ANGELO et al., 1986).

Há relato de que melhorou o controle geral do estado asmático quando foi administrado concomitantemente com terapias esteroidais, broncodilatadoras e antibióticas convencionais (PEIGEN e KEJI, 1988).

O ginseng reduziu de tal forma as concentrações de açúcar no sangue tanto de diabéticos como de não-diabéticos que, num dos estudos, alguns dos pacientes não precisaram mais da terapia de insulina. Além disso, normalizar pressões arteriais elevadas e baixas (BALDWIN et al., 1986).

Foi constatado que o ginseng afeta as concentrações de corticosteróides como ACTH (hormônio adrenocorticotrópico), cortisol e noradrenalina (BALDWIN et al., 1986).

Essa planta tratou com êxito casos de polineuropatia diabética, depressão reativa, impotência psicogênica, enurese e vários transtornos psiquiátricos infantis (BERTÉ, 1982).

O ginseng (*Panax*) foi administrado a mais de 500 indivíduos em dois estudos realizados no Japão, e não foram observados efeitos colaterais. Entretanto, houve suspeita de reações adversas associadas ao tratamento, embora seja muito difícil avaliar os casos individuais em virtude da falta de informações relativas à dosagem, duração do tratamento, espécie utilizada e medicação concomitante. Não obstante, os sintomas documentados abrangem hipertensão (as espécies de ginseng não foram especificadas), diarreia, insônia (em consequência de estimulação excessiva), mastalgia, erupções cutâneas e sangramento vaginal (BALDWIN et al., 1986). Um caso de sangramento vaginal em uma mulher na menopausa foi associado ao uso de creme facial com ginseng (HOPKINS et al., 1988). Em 1979, dois estudos mencionaram a “síndrome de abuso do ginseng” (SAG), enfatizando que a maioria dos efeitos colaterais estava associada à ingestão de grandes doses junto com outros estimulantes psicomotores, incluindo chá e café. Os sintomas da SAG descritos foram diarreia, hipertensão, nervosismo, erupções cutâneas e insônia. Outros sintomas observados esporadicamente incluíam amenorréia, redução de apetite, depressão, euforia, hipotensão e edema. Todavia, esses dois estudos foram amplamente criticados com relação à variedade de ginseng e de outras preparações utilizadas, e também pela falta de especificação das espécies ingeridas (BALDWIN et al., 1986). Em outros estudos, os sintomas de super-dosagem foram descritos como os mesmos apresentados por indivíduos alérgicos ao ginseng, a saber, palpitações, insônia e prurido, juntamente com dor

cardíaca, redução da potência sexual, vômito, diátese hemorrágica, cefaléia e epistaxe. Há relatos de óbitos causados por overdose (BARANOV, 1982).

Foram relatados dois casos de suspeita de interação entre ginseng e fenelzina. Os sintomas descritos foram cefaléia e tremores, numa mulher de 64 anos, e comportamento maniaco numa mulher de 42 anos (JONES et al., 1987).

Os estudos sobre toxicidade realizados com extratos padronizados (EP), em várias espécies de animais, indicam que a toxicidade é baixa (BERTÉ, 1982; SAVEL 1971).

Toxicidade aguda – não foram observados efeitos tóxicos em camundongos e ratos que receberam doses únicas de até 2 g de EP (TRABUCCHI, 1971). Os valores da DL₅₀ em camundongos e ratos (via oral) foram estimados em 2 g/Kg e acima de 5 g/Kg (BERTÉ, 1982). Além disso, os valores da DL₅₀ (intraperitoneal em camundongos) para ginsenosídeos individuais são de 305 mg/Kg (R_{b-2}), 324 mg/Kg (R_d), 405 mg/Kg (R₂), 410 mg/Kg (R_c), 1.110 mg/Kg (R_{b-1}), 1.250 mg/Kg (R_{g-1}) e 1.340 mg/kg (R_f); e a DL₅₀ (intravenosa em camundongos) para as saponinas R_{c-1} e R_{d-1} é de 3.806 mg/Kg (BERTÉ, 1982).

Toxicidade subaguda – não foram observados efeitos tóxicos em ratos que ingeriram aproximadamente 720 mg de um extrato (G115) durante 20 dias (SAVEL, 1971).

Toxicidade crônica - não foram constatados efeitos tóxicos em cães que ingeriram doses diárias de até 15 mg de G115/Kg durante 90 dias. O único efeito observado em ratos que tomaram 200 mg de G115/Kg durante 25 semanas foi aumento da excitabilidade, que desapareceu depois de duas a três semanas (TRABUCCHI, 1971).

O *P. quinquefolius* não apresentou potencial mutagênico ao ser testado contra cepa TM677 de *Salmonella typhimurium* (CHANG et al., 1986).

O uso da planta é contra-indicado durante enfermidade aguda e qualquer forma de hemorragia, bem como durante o período agudo de trombose coronariana.

Indivíduos extremamente energéticos, nervosos, tensos, histéricos, maníacos ou esquizofrênicos devem evitar o uso. Além disso ele não deve ser consumido junto com estimulantes, incluindo café, fármacos antipsicóticos ou durante terapia hormonal (BALDWIN et al., 1986).

Em vista das ações farmacológicas e dos efeitos colaterais documentados, deve ser utilizado com cautela nas seguintes circunstâncias: transtornos cardíacos, diabetes, transtornos hipo e hipertensivos e qualquer terapia esteroidal. Em mulheres podem ocorrer efeitos colaterais estrogênicos.

Na Rússia recomenda-se que as pessoas sadias com menos de 40 anos não usem ginseng, e que as da meia-idade sejam tratadas com pequenas doses diárias. De modo geral, não se recomenda o seu uso prolongado. O autor de um dos estudos afirmou que o principal efeito colateral do uso prolongado é inflamação em um nervo, freqüentemente o ciático, com espasmos musculares na área afetada (BALDWIN et al., 1986). Além disso, os indivíduos considerados aptos ao uso são aconselhados a se abster de bebidas alcoólicas, atividade sexual, substâncias amargas e alimentos condimentados. Pacientes alérgicos ao ginseng podem apresentar sintomas de palpitação, insônia e prurido (BARANOV, 1982).

Gravidez e amamentação: Não foram observadas anormalidades fetais em ratos e coelhos que receberam um extrato padronizado (40 mg/Kg, por via oral) do primeiro ao décimo quinto dia de gravidez (TRABUCCHI, 1971). O ginseng foi adicionado à alimentação de duas gerações sucessivas de ratos em doses diárias de até 15 mg de G115/Kg (equivalente a cerca de 2700 mg de extrato), sem que fossem observados efeitos teratogênicos (BERTÉ, 1982). Entretanto, como a segurança durante a gestação não foi comprovada em seres humanos, deve-se evitar o uso. Não existem dados publicados com relação à passagem dos componentes farmacologicamente ativos do ginseng para o leite materno e, portanto, é conveniente não usá-lo no período de amamentação.

Os estudos fitoquímicos sobre o *Panax ginseng* estão bem documentados e concentraram-se inicialmente nos componentes saponínicos (ginsenosídeos), considerados os principais ativos. Mais recentemente, as ações farmacológicas documentadas para os componentes não-saponínicos, principalmente os polissacarídeos, estimularam a realização de pesquisas com vistas a identificar os princípios ativos não-saponínicos. Muitas das ações farmacológicas registradas são contraditórias, fato atribuído às ações dos ginsenosídeos individuais. Por exemplo, o ginsenosídeo R_{b-1} deprime o SNC, é hipotensivo e tranquilizante, enquanto o R_{g-1} estimula o SNC, combate a fadiga e é hipertensivo. Acredita-se que essas ações contraditórias expliquem a reputação de “adaptogênico”, ou seja, a capacidade de aumentar a resistência geral do organismo ao *stress* e de equilibrar as funções corporais.

Em suma, o ginseng possui uma gama de atividades farmacológicas e, por conseguinte, deve ser utilizado de acordo com as diretrizes traçadas na China, no Japão e na Rússia, tanto em relação à saúde do indivíduo como a quaisquer terapias concomitantes. Usado de forma apropriada parece ser relativamente atóxico, e a maioria dos efeitos colaterais documentados está associada ao uso inadequado e ao desrespeito às advertências e diretrizes tradicionais (NEWALL et al., 2002).

3.2 BIODISPONIBILIDADE E DISSOLUÇÃO

A biodisponibilidade é uma propriedade biológica avaliada após administração do medicamento no organismo através da determinação de parâmetros relacionados à absorção do fármaco absorvido a partir da forma farmacêutica administrada e à velocidade do processo de absorção (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002).

Pelo fato de ser um parâmetro relacionado com processo de absorção, o estudo da biodisponibilidade só é exigido para medicamentos que são administrados por uma via em que ocorre este tipo de processo como por exemplo oral, intramuscular, subcutânea, ou seja, uma via extravascular (ABDOU, 1989).

A absorção é a transferência do fármaco do local de administração para a corrente sanguínea. Assim, por definição, um medicamento administrado por via intravenosa é 100% biodisponível, isto é, toda a dose do fármaco é administrada diretamente na corrente circulatória e está disponível para interagir com os receptores e desencadear o efeito farmacológico. Desta forma, os medicamentos injetáveis de administração intravenosa estão isentos do ensaio de biodisponibilidade.

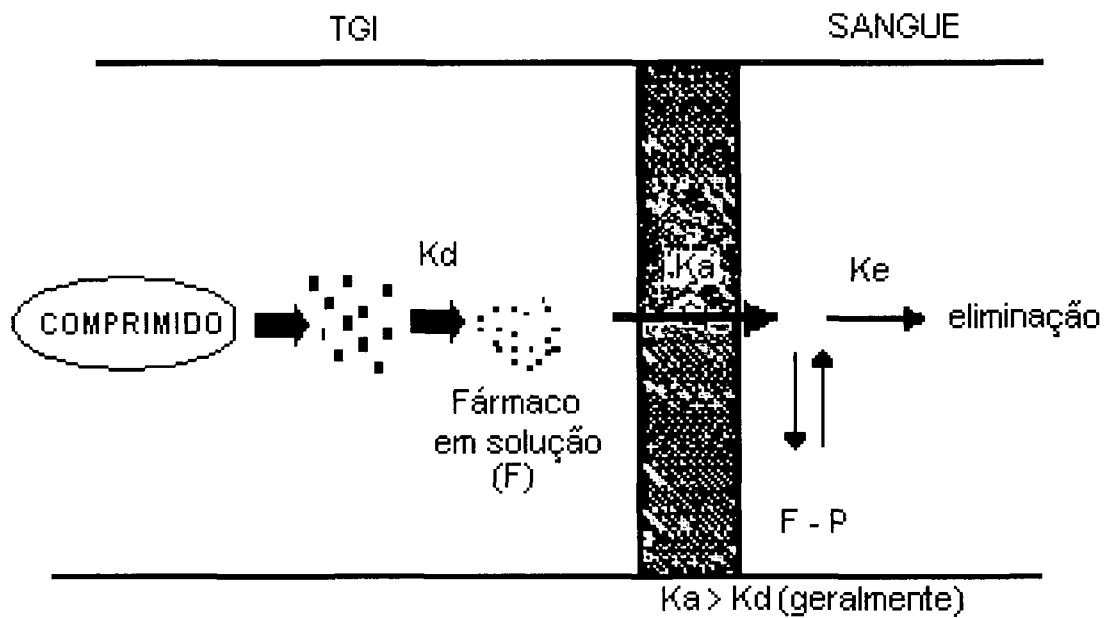
Entretanto, dentre as formas farmacêuticas existentes, dependendo da via de administração, a biodisponibilidade poderá ser afetada diferentemente por uma série de fatores, o que tem implicações diretas na bioequivalência. Tais fatores, muitas vezes, afetam significativamente a dissolução do fármaco, o que pode comprometer sua absorção e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade (SHARGEL e YU, 1999).

As formas farmacêuticas sólidas de uso oral (FFSO) são aquelas que, potencialmente, podem apresentar maiores problemas em relação à biodisponibilidade e à bioequivalência.

Essa preocupação também é válida no caso de suspensões, quando a dissolução do fármaco também se constitua em um passo limitante para sua absorção.

A relação entre a dissolução do fármaco e sua biodisponibilidade pode ser exemplificada através da Figura 4.

FIGURA 4 – DISSOLUÇÃO E ABSORÇÃO DO FÁRMACO NO ORGANISMO. TGI = TRATOGASTROINTESTINAL; K_d = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE DISSOLUÇÃO; K_a = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE ABSORÇÃO; K_e = CONSTANTE DE VELOCIDADE DE ELIMINAÇÃO; P = PROTEÍNA PLASMÁTICA



FONTE: STORPIRTIS, 1999

Segundo o FDA (*Food and Drug Administration*), a biodisponibilidade relaciona-se à quantidade absorvida de um fármaco, a partir de sua forma farmacêutica, e à velocidade pela qual este processo ocorre. De acordo com esta definição, verifica-se que a biodisponibilidade é uma propriedade que deriva da administração do medicamento ao organismo e que, portanto, sofre influência da forma farmacêutica.

A Comunidade Econômica Européia (CEE), em 1987, publicou um guia sobre o tema, definindo o que segue: “os estudos de biodisponibilidade avaliam o

desempenho *in vivo* dos medicamentos (*dosage forms*). Eles requerem, geralmente, o conhecimento da farmacocinética do princípio ativo”.

Os estudos relativos à biodisponibilidade de medicamento são empregados com várias finalidades. Dentre essas finalidades destacam-se: avaliação da bioequivalência de medicamentos; avaliação de medicamentos que contém fármacos novos na terapêutica; avaliação de novas formulações contendo fármacos já conhecidos; avaliação de formas farmacêuticas de liberação controlada (modificada); avaliação de medicamentos com vários fármacos; avaliação de alterações na formulação de um medicamento; avaliação de alterações de posologia/esquema terapêutico.

O FDA-USA preconiza quatro modalidades para o estudo da biodisponibilidade de um medicamento, a saber: determinação quantitativa do fármaco ou metabólitos em sangue total, plasma, soro ou urina, em função do tempo; medida de um efeito farmacológico; ensaio clínico; emprego de modelos animais ou modelos *in vitro* (STORPIRTIS, 1999). Entretanto, a primeira modalidade é a mais recomendada devido à sua maior precisão e exatidão. As demais somente poderão ser empregadas, quando devidamente justificado, e na ausência de método para quantificação do fármaco em líquidos biológicos (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 1999).

Geralmente, a biodisponibilidade é avaliada através da administração do medicamento a voluntários sadios, seguida de coleta de amostras de sangue em tempos adequados é realizada a quantificação do fármaco no plasma, construção das curvas de concentração plasmática *versus* tempo e cálculo de área sob a curva de concentração plasmática *versus* tempo (ASC). Além da concentração plasmática máxima atingida após a administração da dose (C_{max}) e tempo em que ocorre a C_{max} (T_{max}).

Para fármacos eliminados do organismo predominantemente por via renal, a biodisponibilidade pode ser avaliada, indiretamente, através de sua quantificação na urina.

A biodisponibilidade, (propriedade relacionada à absorção do fármaco a partir de sua forma de administração (forma farmacêutica)) pode ser alterada, principalmente, por dois tipos de fatores (SHARGEL, 1993):

1) Fatores relacionados ao indivíduo: idade; sexo; peso corporal; fatores fisiopatológicos associados.

2) Fatores relacionados à forma farmacêutica (fármaco, excipientes e técnica de fabricação): tamanho de partícula; forma polimórfica; presença de solvato ou hidrato; natureza química; solubilidade; tipo e quantidade de excipientes; método de preparação; tipo de granulação; tempo de mistura

3) ou agitação; condições de secagem; velocidade de compressão; força de compressão e instabilidade (STORPIRTIS, 1999).

Para que um fármaco seja absorvido por via oral é necessário que o mesmo esteja dissolvido nos líquidos do TGI. A velocidade do processo de dissolução pode influenciar a velocidade e a magnitude da absorção, o que pode causar efeito direto sobre a atividade farmacológica (CÁRCAMO, 1992 e SHARGEL, 1993).

Quando a velocidade de dissolução é muito lenta, o nível plasmático do fármaco será insuficiente para alcançar o efeito terapêutico, no caso das formas de liberação convencional. Entretanto, a modulação desta velocidade pode ser efetuada de modo a permitir uma cinética de dissolução diferenciada, o que ocorre com formas farmacêuticas sólidas de liberação modificada (WALL, et al. 1986). Deste modo, observa-se a importância dos estudos de dissolução para o desenvolvimento e o controle de qualidade de medicamentos, o que justifica o grande número de pesquisas nesta área e o estabelecimento de métodos oficiais e critérios para sua avaliação (SCHWARTZ, et al., 1973; TAKAYAMA, et al. 1982; CONTE, et al. 1984; DELUCCHI, et al. 1984; ROBINSON; LEE, 1987; KUU, et al. 1989; BUENO, et al.

1989; EL-ARINI, et al. 1989; DAS, 1991; CHATTARAJ, et al. 1991; SHEEN, et al. 1992; SMART, et al. 1992; WAN, et al. 1992; SHESKEY, et al. 1995; USP, 23, 1995).

No caso da grande maioria dos fármacos, ácidos ou bases fracos, a absorção ocorre por difusão passiva das moléculas já dissolvidas nos líquidos do TGI, quando as mesmas se encontram na forma não dissociada, ou seja, mais lipossolúvel. Desta forma, o pH do meio e o pKa do fármaco são fatores que influenciam acentuadamente a absorção, os quais nem sempre são aqueles em que o fármaco melhor se dissolve (ARANCÍBIA, 1972; VALLE, et al., 1988; STORPIRTIS, et al. 1999).

Quando uma forma farmacêutica sólida é colocada em um meio líquido a droga começa a passar do sólido intacto para a solução. A matriz sólida também se não for um sistema contínuo se desintegra em grânulos e estes grânulos se desagregam em finas partículas. Desintegração, desagregação e dissolução podem ocorrer simultaneamente com a liberação.

A diminuição da efetividade de uma forma farmacêutica sólida em liberar o fármaco para a absorção sistêmica depende algumas vezes da desintegração da forma de dosagem e desagregação dos grânulos. Usualmente o de maior importância, entretanto é a velocidade de dissolução da droga sólida. Frequentemente, a dissolução é a etapa limitante ou etapa de controle da velocidade na bioabsorção para fármacos de baixa solubilidade, porque é frequentemente o mais demorado dos vários estágios envolvido na liberação da droga de sua forma de dosagem e passagem para a circulação sistêmica.

Sabe-se que as preparações farmacêuticas sólidas de uso oral são as que apresentam maiores problemas de biodisponibilidade, devido a natureza dos excipientes que fazem parte da formulação, alterações nos processos técnicos de fabricação, qualidade da matéria prima, condições de armazenamento e outros fatores que podem modificar a desintegração e liberação do fármaco (SHARGEL et al. 1992).

Os ensaios de dissolução constituem portanto uma ferramenta essencial no controle da qualidade de formas farmacêuticas, sendo recomendados por diversas farmacopéias (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2000; FARMACOPEIA PORTUGUESA, 1997; BRITISH PHARMACOPEIA, 1996; EUROPEAN PHARMACOPEIA, 1993), uma vez que, sendo bem conduzidos, podem servir como indicadores preditivos da biodisponibilidade (PINHO, 1999).

Um número de métodos para o teste *in vitro* e *in vivo* de formas de dosagem tem sido sugerido.

A proposta de um estudo de dissolução *in vitro* é fornecer um método rápido e barato que se correlacione com a performance da forma de dosagem no organismo humano.(MARTIN, 1993).

Apesar do grande número de trabalhos publicados sobre este assunto, não encontramos nenhuma referência sobre este estudo para formas farmacêuticas de fitofármacos, seja este na forma de extrato ou droga vegetal pulverizada.

Um dos prováveis motivos é o fato dos fitofármacos se constituírem em misturas complexas de compostos químicos que podem variar consideravelmente dependendo de fatores ambientais, genéticos e técnicos. Além disso, os princípios ativos responsáveis pelos alegados efeitos terapêuticos, muitas vezes são desconhecidos ou apenas parcialmente explicados e por conseguinte a dificuldade de se estabelecer a dosagem necessária da substância farmacologicamente ativa para se obter eficácia. Esses fatores impedem um nível de controle como o que se faz com as substâncias sintetizadas nos medicamentos convencionais.

A dissolução de um sólido em um líquido não reativo pode ser considerada como o fenômeno inverso da cristalização. As partículas liberadas são distribuídas através do solvente por difusão, o que ocorre a partir da superfície do sólido.

O estudo detalhado desse processo, em relação a um fármaco específico, fornece ao farmacotécnico, informações essenciais sobre a formulação a ser desenvolvida. Entretanto, cabe ressaltar que a dissolução de um fármaco, a partir de

uma forma farmacêutica, é um problema mais complexo que deveria ser avaliado através de ensaios que propiciem a correlação com dados obtidos “in vivo” (CÁRCAMO, 1992).

Para a realização do teste de dissolução a USP 24 reconhece oficialmente sete métodos. Entretanto, os métodos 1 e 2 são os mais empregados, utilizando aparelhos cujos componentes principais são: banho termostaticado mantido a $37 \pm 0,5$ °C, com seis cubas de material transparente (acrílico ou vidro), usadas para conter o meio de dissolução e sistema de agitação (cesta ou pá) provido de controle automatizado da velocidade. Preconiza também, a calibração do equipamento através de comprimidos padrões, aspecto fundamental discutido por vários autores (LANG, 1971; DAVIDSON, 1995; ACHANTA et al., 1995).

Quando se utilizam os sistemas de agitação pá ou cesta, o volume e a composição do meio de dissolução são selecionados de acordo com a solubilidade e a dose da substância ativa, de modo a garantir que não haja problemas de saturação da substância no meio (condição “sink”). Para fornecer condição “sink” a USP estabelece que o volume do meio de dissolução deve ser superior a três vezes, no mínimo, ao do ponto de saturação da substância, dentro da faixa de 500 a 1000 mL de meio. A Farmacopéia Britânica simplesmente especifica 1000 mL como volume padrão, mas cita o volume de 500 mL, para o caso de problemas de detecção da substância e, de 1200 mL, quando a condição de solubilidade é crítica. Em geral, recomendam que o volume ideal de meio seja de 5 a 10 vezes o volume necessário à saturação da substância no sistema de dissolução a ser utilizado (CÁRCAMO, 1981; COHEN, et al. 1990).

O ideal é que o meio de dissolução reproduza as condições do TGI. Apesar dos avanços no conhecimento sobre a fisiologia do TGI, praticamente não é possível mimetizar com segurança as condições *in vivo* através do teste de dissolução. O mais adequado é utilizar a correlação entre dissolução e parâmetros farmacocinéticos (área sob a curva e concentração plasmática máxima). Se houver

correlação *in vitro/in vivo*, e essa for validada, a importância fisiológica do meio passa a ser secundária. Entretanto, para ampliar as possibilidades de correlação, recomenda-se escolher um meio que contenha tampão na faixa fisiológica (pH 1,0-8,0), com ou sem surfactante, dependendo da solubilidade do fármaco (SKOUG, et al. 1996). Em geral, meio ácido (ácido clorídrico 0,1N) é empregado para substâncias básicas; meio alcalino (tampão fosfato pH 6,8-7,6) para substâncias ácidas e água para substâncias neutras (REIS, 1999). Segundo os critérios farmacopeicos, na seleção do meio de dissolução deve se dar preferência à água e, dependendo das características de solubilidade da substância, às soluções tampão com pH de 4,0 a 8,0 ou ácido clorídrico 0,1N (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 1999). Por conveniência analítica, não se preconiza a utilização de enzimas durante o teste (COHEN, et al. 1990).

A adoção de um guia em 1977, pela Farmacopéia Americana, com objetivo de selecionar condições adequadas para o teste de dissolução, resultou em um enxame de novos métodos nos anos entre 1975 e 1980 (COHEN, et al., 1990). Entre as condições propostas neste guia encontram-se:

- meio de dissolução adequado: água (preferencial); ácidos aquosos ou soluções tampões (pH 4-8); não utilizar enzimas;
- volume de meio: não menos que três vezes o volume requerido para saturar a solução (geralmente entre 500 e 1000 mL);
- especificações para a cedência mínima: maior ou igual a 75% em 45 minutos, sobre cada dose unitária;
- sistema de agitação: pá a 50 rpm ou cesta a 100 rpm.

Para o FDA (FDA, 2000 e 2001), as condições do teste de dissolução são definidas pela escolha de alguns parâmetros, tais como, Aparato 1 USP (Método de Cesta) a 100 rpm ou Aparato 2 USP (Método de Pá) a 50 rpm; volume de meio de dissolução igual a 900 mL constituído de ácido clorídrico 0,1N, tampão pH 6,8 ou fluido simulado intestinal.

Embora não exigida oficialmente, a realização dos perfis de dissolução permite orientar o desenvolvimento e a otimização de formulações; minimizar o risco da falta de bioequivalência entre lotes; obter a aprovação de registro junto ao órgão competente; realizar estudos comparativos entre formulações diferentes; estabelecer correlações *in vitro/in vivo*; determinar a estabilidade da formulação e a capacidade de proteção das embalagens contra calor e umidade (ANDERSON, et al. 1998; REIS, 1999; CASTRO, 2000). As farmacopéias preconizam, na realização dos perfis de dissolução, que as amostras devem ser retiradas sempre na mesma posição da cuba. Esta posição corresponde à metade da distância entre a extremidade superior da haste e a superfície do meio de dissolução, a 100 mm da parede da cuba. O volume retirado deve ser substituído pelo meio de dissolução (METHA, 1994).

Segundo FDA (1995), HEALTH CANADA (1996) e JU e LIAW (1997), na ausência de método de dissolução padronizado, o perfil de dissolução comparativo deve ser determinado em , pelo menos, três meios na faixa fisiológica (pH 1 a 7,5) como água, ácido clorídrico diluído e tampões farmacopéicos com pH de 4,5, 6,5, e 7,5.

De acordo com NOORY et al.,2000, o perfil de dissolução do medicamento é determinado utilizando três meios de dissolução descritos na USP, incluindo, ácido clorídrico 0,1N; tampão acetato de sódio pH 4,5; e tampão fosfato pH 6,8. O volume de meio de dissolução é de 900-1000 mL e o método de cesta (100-120 rpm) ou método de pá (50-75 rpm) são utilizados. O teste inicial é realizado utilizando duas unidades do medicamento referência (em sua mais alta concentração) e alíquotas são coletadas em tempos pré-determinados, para gerar o perfil de dissolução em cada meio. O efeito do pH sobre o produto deve ser avaliado e o meio de dissolução é então selecionado de acordo com os resultados obtidos. Caso o produto não apresente cedência satisfatória, pode ser necessária a adição de um surfactante ao meio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Substâncias Químicas de Referência

- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Rb₁ (EXTRASYNTHESE), Lote 01050321, teor estimado 99,33%;
- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Rb₂ (EXTRASYNTHESE), Lote 01050317, teor estimado 95,93%;
- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Rc (EXTRASYNTHESE), Lote 01050314, teor estimado 98,93%;
- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Rd (EXTRASYNTHESE), Lote 01050310, teor estimado 99,03%;
- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Re (EXTRASYNTHESE), Lote 01050309, teor estimado 100,00%;
- Padrão de referência do *Panax ginseng*, Rg₁ (EXTRASYNTHESE), Lote 01050326, teor estimado 99,74%;
- Extrato de Ginseng Pulverizado (FINZELBEERG), cedido pela empresa LUPER, lote 11867348 , teor estimado 27,3% de ginsenosídeos;
- Lactose Monohidratada (VETEC), lote 011348 – Marca VETEC;
- Celulose Microcristalina MC – 102 (Purifarma), lote 1363/00

4.1.2 Formas Farmacêuticas Submetidas ao Ensaio de Dissolução

- Cápsulas de Ginseng Pulverizado (GP), lote 1002, fabricadas em abril/2001, válidas até abril/2003, adquiridas no comércio local;

- Cápsulas Extrato de Ginseng Pulverizado-Celulose Cristalina (EGP-Celulose), produzidas em dezembro/2001;
- Cápsulas Extrato de Gingeng Pulverizado-Lactose (EGP-Lactose), produzidas em dezembro/2001.

4.1.3 Reagentes e materiais de laboratório

- Acetonitrila grau HPLC– Merck;
- Água ultra pura MILIQ;
- Ácido Clorídrico PA – Synth;
- Hidrogenoftalato de Potássio PA – Merck;
- Hidrogenofosfato de Potássio PA – Merck;
- Solução pH 4,01 – Gehaka;
- Solução pH 7,01 – Gehaka;
- Papel de filtro tipo Whatman – Cinza;
- Filtro de membrana celulose;
- Cápsulas gelatina dura incolor (Capsugel), tamanho N.º 4 , capacidade 0,21 mL;
- Placas de sílica gel F60 254 – Merck;
- Tamis 60 (abertura nominal de malha 250 µm);
- Vidrarias e reagentes de uso comum em laboratório;
- Coluna Cromatográfica Bond Elut C18 – Varian;
- Coluna SepaK C18 – Varian;
- Coluna Cromatográfica Hypersil ODS (20 cmx4,6 mm,5 µm);

4.1.4 Equipamentos

- Agitador, marca Microquímica, modelo MQ AMA 301;

- Balança Analítica de 0,1 mg de precisão, marca Mettler, modelo H6 160;
- Balança Analítica de 0,1 mg de precisão, marca Mettler, modelo AG 245;
- Balança Analítica de 0,1 mg de precisão, marca Mettler, modelo AE 100;
- Bomba a Vácuo, marca Quimis, modelo Q-355B1;
- Banho, marca Quimis, modelo Q-2172;
- Cromatógrafo Líquido, marca GBC – modelo LC 1150, com detector de UV-Vis modelo 1200;
- Cromatógrafo Líquido, marca VARIAN, bomba quaternária Modelo 9012Q, com amostrador automático Varian Prostar 410, com detector de UV-Vis modelo 9050;
- Coluna Hypersil ODS, medidas: 4,6x200 mm com 5 µm, marca Agilent (HP) Ref.: 79916OD-574;
- Câmara á vácuo, marca SUPELCO;
- Dissolutor, marca Erweka, modelo DT 80D;
- Espectrofotômetro infravermelho, marca Shimadzu, modelo FTIR;
- Espectrofotômetro UV-VIS, marca Metrolab, modelo 1700;
- Encapsulador manual;
- Potenciômetro digital, marca Gehaka, modelo PG 2000;
- Tapped volumeter, modelo SVM12, marca Erweka;

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Identificação do GP E EGP

4.2.1.1 Cromatografia em camada delgada

Amostras de Cápsula de Ginseng Pulverizado (GP) e Cápsulas de Extrato de Ginseng Pulverizado (EGP) foram analisados por cromatografia em camada delgada (CCD) para pesquisa de ginsenosídeos.

As amostras do GP e EGP foram diluídas com água:acetonitrila (9:1). As soluções foram aplicadas em placas de sílica gel F60 254 (Merck) de 7 cm de comprimento e 5 cm de largura e transferida para cuba de vidro saturada com fase móvel na seguinte proporção: clorofórmio, metanol, água destilada (70:30:40).

A placa cromatográfica foi retirada quando a fase móvel atingiu o fronte da fase estacionária. Após o desenvolvimento a placa foi seca e revelada com vanilina fosfórica.

4.2.1.2 Espectrometria de infravermelho

Foram traçados espectros das amostras do GP e EGP e padrões de referência de ginsenosídeos na região do infravermelho na faixa de 400 a 5000 cm^{-1} , a partir da dispersão e compartilhamento da amostra em brometo de potássio. As bandas de absorção mais significativas foram apontadas e analisadas.

4.2.2 Preparo da Forma Farmacêutica – Cápsulas

Foram preparadas duas formulações de forma que cada uma delas contivesse o mesmo teor de ginsenosídeo que a apresentação comercial. As cápsulas foram preenchidas com o auxílio de encapsulador manual por nivelamento de superfície.

4.2.2.1 Preparo das misturas

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO DAS MISTURAS UTILIZADAS NA FORMULAÇÃO A E B

Matéria prima	Fórmula A (mg/cápsula)	Fórmula B (mg/cápsula)
Celulose microcristalina 102	60,90	-
Lactose monohidratada	-	76,10
Extrato de ginseng	13,88	13,88

FONTE: O AUTOR

As matérias primas foram padronizadas por tamis 60 (abertura nominal de malha 250 μm) pesadas e em seguida misturadas por diluição geométrica em grau de vidro (NOGUEIRA, 1995).

4.2.2.2 Determinação do volume aparente

Foram pesados cerca de 10 g da mistura em análise e transferida para uma proveta graduada, completamente seca. Determinou-se o volume da amostra denominado-o de volume aparente inicial. A proveta foi então encaixada ao “tapped volumeter” e programado para executar 10, 100, 200, 300 e 400 batidas. Ao final de cada ciclo de programação o volume aparente foi determinado, denominando-os de

volume aparente entre uma determinação e outra fosse inferior a 2 mL. O ensaio foi realizado em triplicata.

A partir destes dados calculou-se a densidade aparente inicial e densidade aparente batida 10, 100, 200, 300 e 400.

4.2.2.3 Escolha do tamanho do invólucro (cápsula gelatina dura nº 04)

O invólucro foi escolhido de acordo com volume compactado com 10 batidas e a massa a ser adicionada em cada cápsula de acordo com as formulações A e B. Foi empregada a relação $v = m/d$, onde d corresponde a densidade com 10 batidas, m a massa a ser adicionada em cada cápsula e v o volume a que esta massa corresponde. Com este valor de volume comparou-se com a tabela de capacidade das cápsulas em mL, escolhendo o invólucro.

TABELA 2 – TAMANHOS DAS CÁPSULAS

Capacidade dos receptáculos gelatinosos

N.º dos receptáculos gelatinosos	d (cm)	l (cm)	Volume (mL)	
			Parke Davis	Eli Lilly
000	0,93	2,22	1,37	1,42
00	0,80	2,03	0,95	0,92
0	0,73	1,85	0,68	0,70
1	0,66	1,67	0,50	0,50
2	0,60	1,54	0,37	0,40
3	0,56	1,36	0,30	0,37
4	0,51	1,25	0,21	0,21
5	0,47	0,93	0,13	0,12

d = diâmetro do receptáculo; l = comprimento do receptáculo

FONTE: PRISTA (1995).

4.2.3 Controle de Qualidade das Cápsulas

Os testes descritos a seguir foram realizados em amostras cápsulas de GP, lote 1002, cápsulas EGP-Celulose (Formulação A), produzidas em dezembro/2001 e cápsulas EGP-Lactose (Formulação B), produzidas em dezembro/2001, obedecendo os testes gerais da F. Bras. IV (FARMACOPÉIA, 1988).

4.2.3.1 Determinação de peso

Foram determinados os pesos individuais de 20 cápsulas, o peso médio correspondente e os desvios percentuais em relação ao peso médio. Foi adotado o desvio máximo de 10% segundo F. Bras. IV, conforme método geral V.1.1.(FARMACOPÉIA, 1988).

4.2.3.2 Dissolução

O teste de dissolução foi realizado em aparelho de dissolução Erveka, conforme procedimento da Farmacopéia Brasileira, utilizando 6 cápsulas de cada amostra e as condições descritas a seguir.

- meio de dissolução: água destilada a 37 °C, 900 mL;
- sistema de agitação: cesta;
- velocidade de rotação: 100 rpm;
- tempo: 60 minutos.

A cedência foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando o método de doseamento descrito em 4.2.5.2.

4.2.3.2.1 Preparo da solução padrão

Foram pesados padrões dos ginsenosídeos (Re, Rg₁, Rb₁, Rc Rb₂ e Rd) e diluídos em solução de acetonitrila:água (35:65) e analisadas por CLAE, conforme 5.2.5.2

4.2.3.2.2 Preparo da amostra

Colocou-se uma cápsula de cada forma farmacêutica em cada uma das seis cestas, que foram mergulhadas nas cubas contendo o meio de dissolução e procedeu-se o experimento nas condições descritas. Decorridos os 60 minutos do ensaio de dissolução alíquotas de 10 mL de cada cuba foram retiradas, filtradas evaporadas à secura em rotoevaporador à pressão reduzida e restituídas com 1 mL da solução acetonitrila:água (35:65)

As leituras de absorvância das soluções padrões e das soluções amostra foram feitas por CLAE no comprimento de onda de 203 nm. As condições cromatográficas utilizadas são descritas no item 5.2.5.2.

4.2.3.2.3 Critério de avaliação

Os resultados obtidos a partir das análises das soluções obtidas na dissolução foram avaliados conforme critério adotado segundo Farmacopéia Brasileira (1988), ou seja, as unidades que apresentaram resultados maiores ou iguais a T + 5%, foram consideradas aprovadas, não sendo necessária uma segunda análise.

4.2.3.3 Uniformidade de dose unitária

A uniformidade das doses unitárias e o teor de ginsenosídeos/unidade de cápsula foram realizadas para as formas farmacêuticas cápsulas GP, cápsulas EGP-Lactose e cápsula de EGP-Celulose segundo a Farmacopéia Brasileira (1988). A quantificação dos ginsenosídeos foi realizada pelo método CLAE.

4.2.3.3.1 Preparo das curvas padrões

Foram construídas curvas com as soluções padrões diluídas em solução de acetonitrila:água (35:65) nas concentrações de 0,125, 0,250 e 0,500 mg/mL para cada ginsenosídeo (Re, Rg₁, Rb₁, Rc Rb₂ e Rd), os quais foram misturados em uma única solução e analisados por CLAE, conforme 5.2.5.2. O sinal de absorvância de cada pico foi plotado com as respectivas concentrações e a equação da reta foi calculada por regressão linear.

A linearidade esta relacionada diretamente com o sistema de emissão analítica. Teoricamente a linearidade determina a região da curva resposta ou de quantificação onde há relação direta sinal/concentração.

A regressão linear (método dos mínimos quadrados) é uma forma de estimar qual a melhor reta que passa pelos pontos da reta, obtidos experimentalmente.

A equação da reta torna-se mais atrativa quando se introduz o coeficiente de correlação (r), que expressa a relação de x a y na curva, onde os valores ideais esperados são 1 e -1, ou seja, quanto mais próximo da unidade maior a relação, maior a probabilidade de existir uma relação linear definida. Caso os valores tendam a zero, indica-se que não há relação linear (LEITE, 2002).

Lembrando que a equação da reta é definida por: $y = ax + b$, onde y é a variável dependente (sinal analítico) e x a variável independente (concentração do padrão).

Para se obter a reta de regressão de y sobre x, determina-se o coeficiente angular **a** e o coeficiente linear **b**, por equações matemáticas.

Podendo-se também determinar a concentração de um determinado analito em função da curva, utilizando-se a expressão:

$$\text{Conc.analito} = \frac{b - y}{a}$$

4.2.3.3.2 Preparo das soluções amostra

Foram separadas 10 cápsulas de cada uma das formulações (GP, EGP-Lactose e EGP-Celulose) e seu peso individual determinado. Cada uma das cápsulas foram preparadas segundo o método descrito em 4.2.4 e o teor do ginsenosídeo foi determinado utilizando-se a mesma metodologia do doseamento conforme descrito em 5.2.5.2

4.2.3.3.3 Critérios de avaliação

Os requisitos são cumpridos se o teor do fármaco em cada unidade testada estiver situado entre 85,0 % e 115 % do valor declarado e nenhuma unidade estiver fora da faixa de 75 % a 125 % do valor declarado e o Desvio Padrão Relativo de 10 unidades testadas for menor ou igual a 6 %.

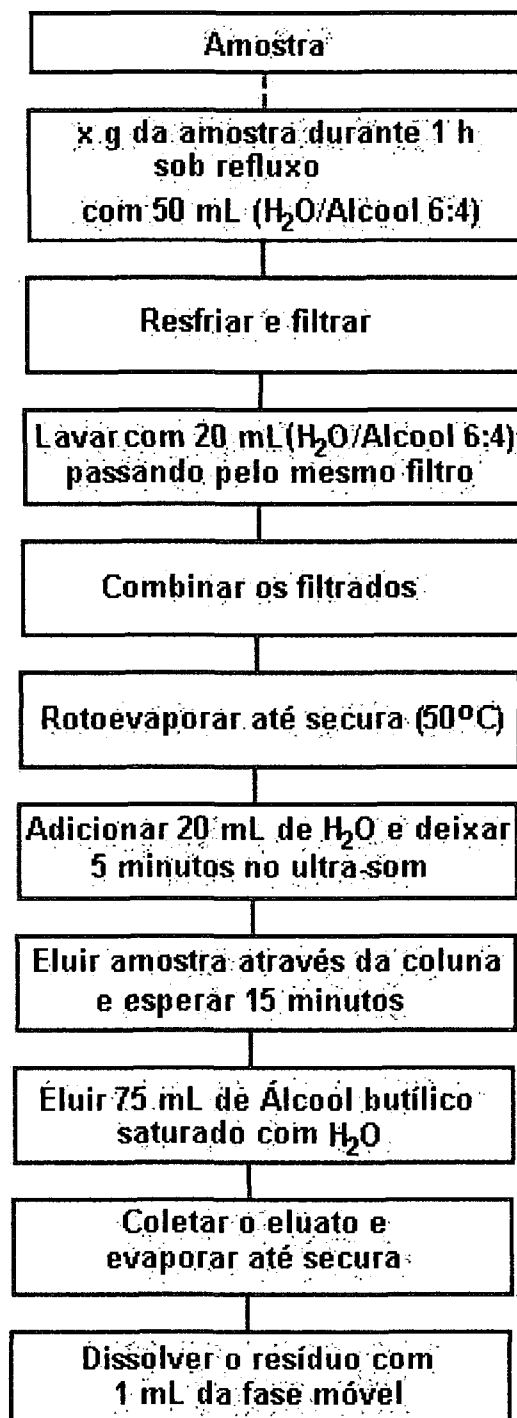
4.2.4 Preparo da Amostra para o Doseamento

O doseamento foi realizado para amostras de GP, EGP e para as cápsulas de EGP-Lactose, EGP-Celulose e GP pela metodologia CLAE com leituras de absorbância realizadas em 203 nm.

Foi pesada uma alíquota de amostra de cada um dos materiais analisados aos quais foram adicionados 50 ml de uma solução água e álcool (6:4) e levados à refluxo durante 1 hora. Após esse período a solução foi resfriada e filtrada em filtro quantitativo. O filtro foi lavado com 20 ml de solução água e álcool (6:4), e o filtrado foi levado à secura em evaporador rotatório à 55 °C. Ao resíduo da evaporação foram adicionados 20 ml de água e a solução foi agitada por 5 minutos no banho de ultra-som. Na seqüência a solução foi purificada através de colunas SepaK C18, sendo o eluato recolhido e levado até secura no rotoevaporador. Ao novo resíduo obtido foram colocados 1 ml de água:acetonitrila na proporção 65:35 (v/v) e o líquido foi filtrado com membrana filtrante (Millex) e analisado em CLAE.

Na Figura 5 está mostrado o fluxograma de preparo das amostras.

FIGURA 5 - FLUXOGRAMA DO PREPARO DA AMOSTRA PARA INJEÇÃO NO CROMATÓGRAFO



FONTE: O AUTOR

4.2.5 Teor (Doseamento)

Para o doseamento dos ginsenosídeos foram realizados ensaios por CLAE de acordo com as recomendações descritas na United States Pharmacopeia (USP 24) (Metodologia A) e um novo método otimizado desenvolvido nesse trabalho (Metodologia B) .

No sistema de detecção, os componentes da amostra, eluídos pela coluna emitem sinais que são convertidos no gráfico, gerado pelo registrador, integrador ou software chamado de cromatograma.

A preocupação maior não é definir todas as equações matemáticas, mas sim interpretá-las visando ao uso prático.

A resolução é o objetivo primário da cromatografia, já que relaciona uma medida de separação dos constituintes de uma amostra. Para cada par de picos adjacentes, a resolução é calculada pela equação:

$$R = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{(W_2 + W_1)/2} = \frac{2\Delta.T}{W_2 + W_1}$$

onde t_{R2} e t_{R1} representam os tempos de retenção dos componentes 2 e 1, respectivamente, considerando como origem a injeção da amostra e W_1 e W_2 , as larguras dos picos na linha de base (em unidade de tempo). A resolução depende da largura do pico e da distância entre os máximos dos picos.

O t_0 (ou t_m) conhecido como tempo morto, é o tempo correspondente ao chamado volume morto ou volume total do solvente entre o ponto de injeção e o de detecção. Correspondente ao volume que a fase móvel pode ocupar entre as partículas da fase estacionária e a parede da coluna, entre as próprias partículas e de mais espaços livres. (LANÇAS, 1993).

Em picos bem definidos, pode-se dizer que $W_1=W_2$ é a resolução expressa por:

$$R = \frac{2\Delta.T}{W_1} \quad \text{ou} \quad R = \frac{\Delta T}{W_2}$$

4.2.5.1 Parâmetros de operação método A

Fase Móvel: Uma mistura de solução A (Água) e solução B (Acetonitrila) no sistema cromatográfico:

TABELA 3.- CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS UTILIZADAS NO MÉTODO A

Tempo (minutos)	Solução A (%)	Solução B (%)	Eluição
0	82	18	Equilíbrio
0 - 10	82	18	Isocrático
10 - 50	82→60	18→40	Gradiente linear
50 - 80	60	40	Isocrático

FORNE: O AUTOR

Detetor: UV

Comprimento de Onda: 203 nm

Coluna: Hypersil ODS (20 cmx 4,6 mm, 5 µm)

Fluxo: 1 mL/minutos

4.2.5.2 Parâmetros de operação método B

Eluição: Isocrática

Fase Móvel: Acetonitrila:Água (35:65)

Detetor: UV

Comprimento de Onda: 203 nm

Coluna: Hypersil ODS (20 cm x 4,6 mm, 5 μ m)

Fluxo: 1 mL/minuto

4.2.6 Perfil de Dissolução

Com objetivo de definir o meio de dissolução para a avaliação das cápsulas de ginseng foi realizado o estudo de perfil de dissolução para cápsulas contendo GP.

Os meios utilizados foram:

1. HCl - 0,2 mol/L, pH 0,9;
2. Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 3,6;
3. Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 5,6;
4. Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 6,6;
5. Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 7,6;
6. Água destilada, pH 6,8;
7. Solução de Sörensen, pH 5,7.

O sistema permaneceu sob agitação por 60 minutos, a uma velocidade de 100 rpm com aparato N.º 1 (cesto).

Manteve-se a temperatura constante a 37 °C \pm 0,5 °C durante o período do experimento.

Foram retiradas alíquotas de 10 mL dos meios, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 em tempos de 15, 30, 45 e 60 minutos. Essas alíquotas foram filtradas e o filtrado dividido em duas partes: uma parte analisada por espectrometria de Uv-Vis a 203 nm e a outra parte evaporado à secura e o resíduo dissolvido em acetonitrila:água (1:9) e analisado por CCD e CLAE. Após a retirada das alíquotas foi repostado do mesmo volume de solvente. Para o meio que apresentou o melhor resultado repetiu-se o ensaio de perfil em triplicata, sendo as alíquotas retiradas nos tempos de 5,10, 20,

40 e 60 minutos. Após filtração os filtrados foram analisados por UV-Vis e CLAE (Método A).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DO GINSENG PULVERIZADO (GP)

O GP por análise visual apresentou-se na forma de pó, cor bege com odor característico. Estas características estão de acordo com certificado de análise N^o. 0146351 da Empresa Finzelberg de 22 de fevereiro de 2001 e de acordo com as especificações da Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2002).

Quando examinado no microscópio, o pó do GP apresentou traços de compostos de células poligonais corticais de cordões finos mas principalmente com feloderma na superfície; largo córtex de células parenquimatosas com numerosos canais secretores arranjados nas zonas concêntricas; xilema parenquimatoso com traqueídes não lignificada e vasos delgados lignificado com retículos. espesso, isolado ou em pequenos grupos; ocasionalmente grupos de cristais de oxalato de cálcio nas células da região central. Estas características estão de acordo com a descrição da UNITED STATES PHARMACOPEIA , 2002 para o GP

5.2 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DO GP E EGP

Os cromatogramas obtidos por CCD tanto do EGP quanto do GP mostraram perfis cromatográficos semelhantes entre si, constituídos de manchas em ordem e posição semelhante e colorações características do ginseng (WAGNER, 1996), conforme Figura 6.

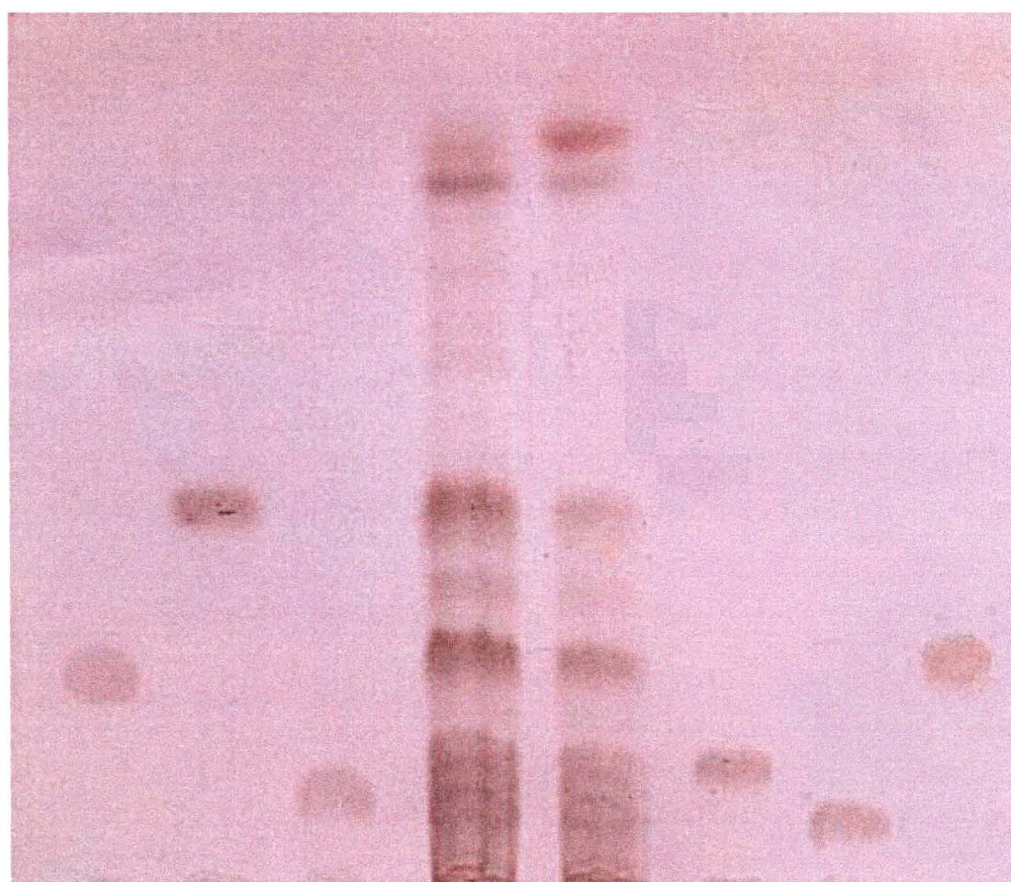
Foram observadas manchas com valores de R_fs semelhantes aos do ginsenosídeos utilizados como padrões (Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ e Rd), cujos valores encontram-se na Tabela 4. Tais resultados sugerem a presença destes compostos nas amostras.

TABELA 4 – VALORES DE RFS ENCONTRADOS PARA OS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS

Padrões	Rfs (cm) x 100
Re	26
Rg ₁	43
Rb ₁	8
Rc	14
Rb ₂	11
Rd	27

FONTE: O AUTOR

FIGURA 6 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA DO GINSENG PULVERIZADO (GP) E EXTRATO DE GINSENG PULVERIZADO (EGP) CONTRA OS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS MAIS USUAIS: 1- Re; 2- Rg₁; 3- Rb₂; 4- EGP, 5- GP; 6- Rc; 7- Rb₁; 8- Rd
SOLVENTE DE CORRIDA: CLOROFÓRMIO : METANOL : ÁGUA (70 : 30 : 4)
REVELADOR: VANILINA FOSFÓRICA



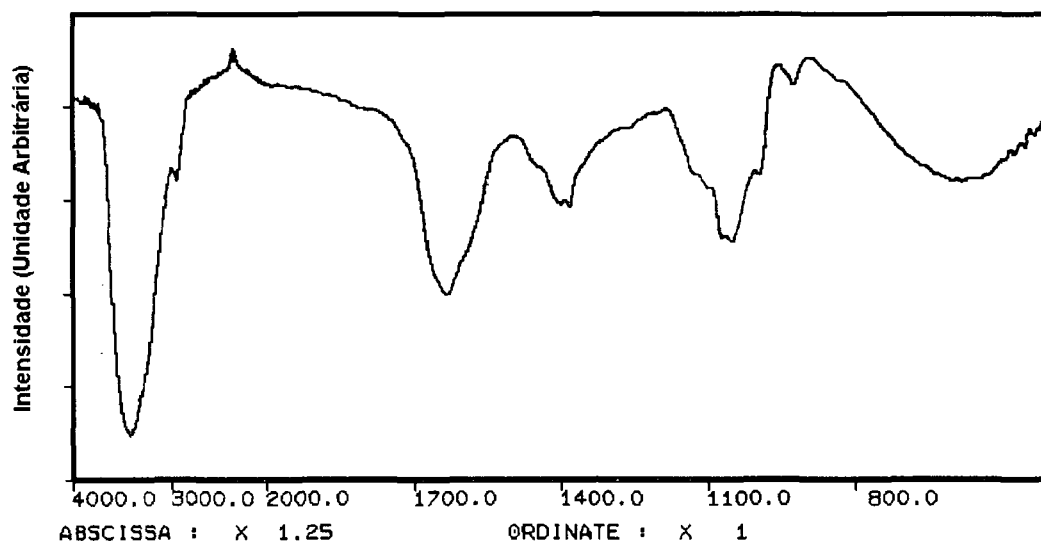
1(Re) 2(Rg₁) 3(Rb₂) 4(EGP) 5(GP) 6(Rc) 7(Rb₁) 8(Rd)

FONTE: O AUTOR

5.3 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO GP E EGP

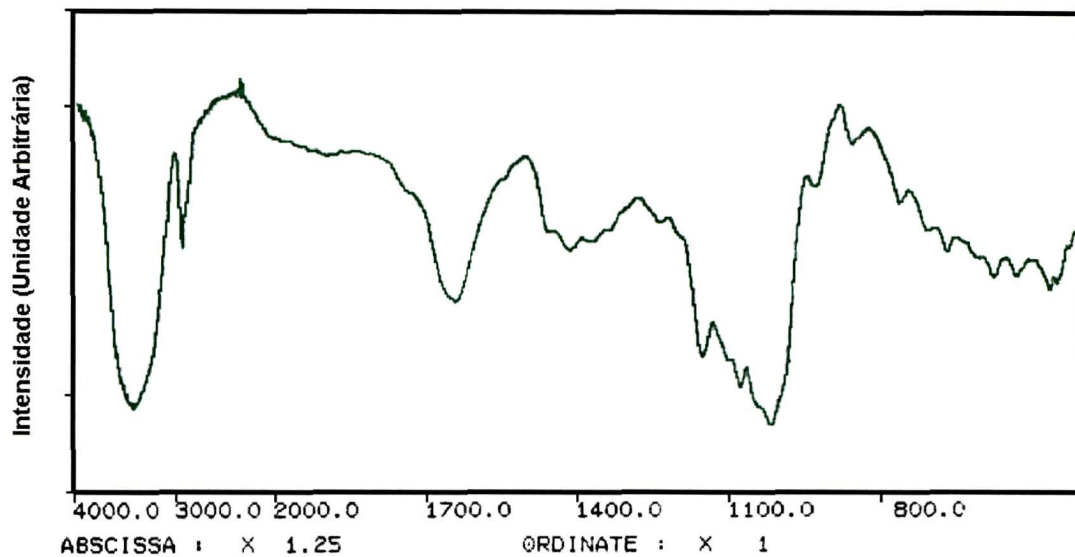
Com objetivo de confirmar se o EGP e o GP apresentavam componentes característicos de ginseng foram realizadas análises espectrométricas vibracionais na região do infravermelho conforme Figuras 7 e 8. Os espectros obtidos foram comparados com espectros dos ginsenosídeos padrões característicos de ginseng.(Figura 9)

FIGURA 7 – ESPECTRO VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO EGP



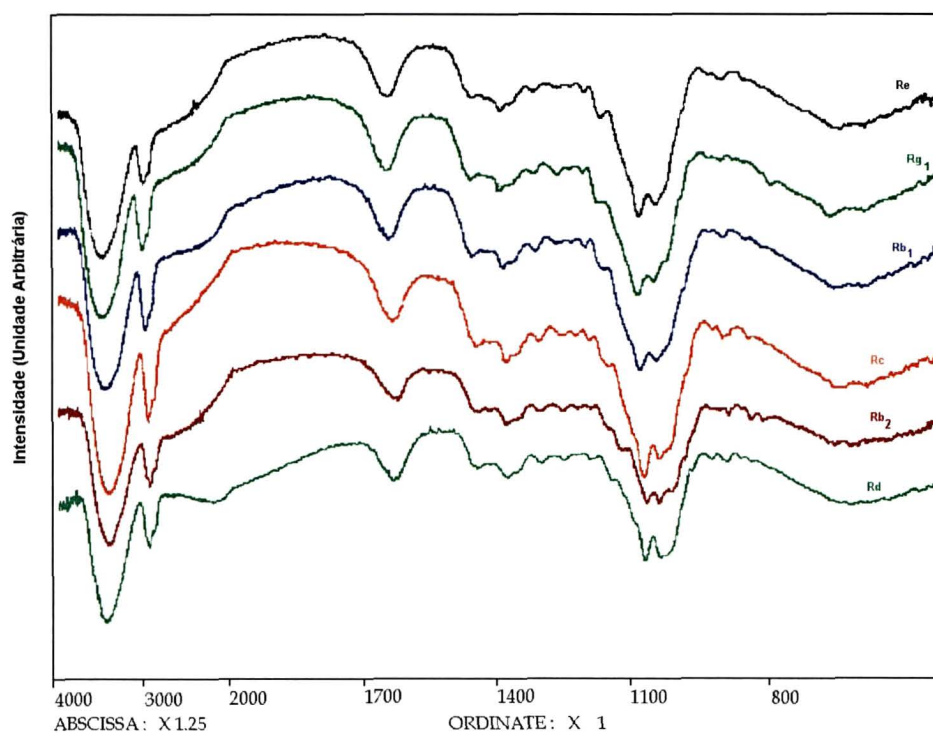
FONTE: O AUTOR

FIGURA 8 - ESPECTRO VIBRACIONAL NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DO GP



FONTE: O AUTOR

FIGURA 9 – ESPECTROS VIBRACIONAIS NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS PADRÕES DE GINSENOSÍDEOS



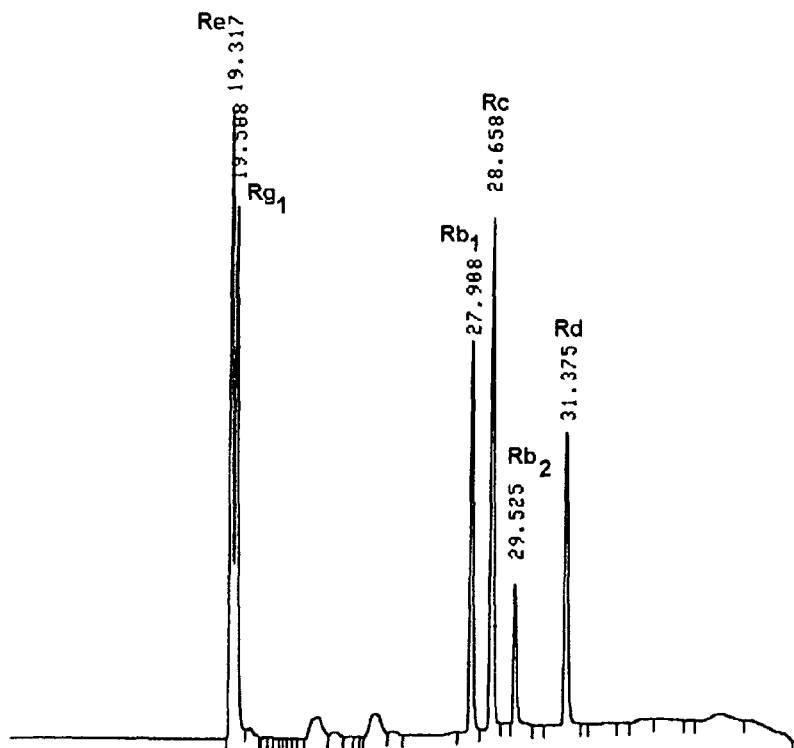
FONTE: O AUTOR

Apesar do EGP e o GP serem misturas complexas podemos observar que seus espectros mostram bandas de absorção em regiões semelhantes às aquelas apresentadas pelos padrões. Entre essas bandas pode-se destacar: hidroxila em 3500 cm^{-1} ; CH alifático (sp^3) em 3000 cm^{-1} e deformação C-H de alcenos e frequência de C-O de éteres entre 1500 e 900 cm^{-1} . Embora existam algumas semelhanças entre os espectros das amostras e dos padrões estes resultados não podem ser considerados como parâmetros de identificação conclusivos, tendo em vista que as amostras não são compostos puros. No entanto fornecem uma indicação da presença dos ginsenosídeos nas amostras analisadas.

5.4 CARACTERIZAÇÃO DOS GINSENOSSÍDEOS, DO GP E EGP POR CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA. (CLAE)

A técnica cromatográfica chamada de metodologia A, descrita em 4.2.5.1, embora apresente boa resolução entre picos ($R_{1,2} = 1,26$; $R_{1,3} = 49,09$; $R_{1,4} = 53,40$; $R_{1,5} = 58,31$ e $R_{1,6} = 68,89$) conforme se pode observar na Figura 10, apresentou tempos de retenção elevados de 19,31 a 31,37 min. Para reduzir o tempo do experimento foi desenvolvida a otimização da metodologia. Modificando-se o sistema de eluição através da mudança de polaridade da fase móvel conforme descrito em 4.2.5.2,

FIGURA 10 - CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ E Rd, OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO A DESCRITO EM 4.2.5.1.



FONTE: O AUTOR

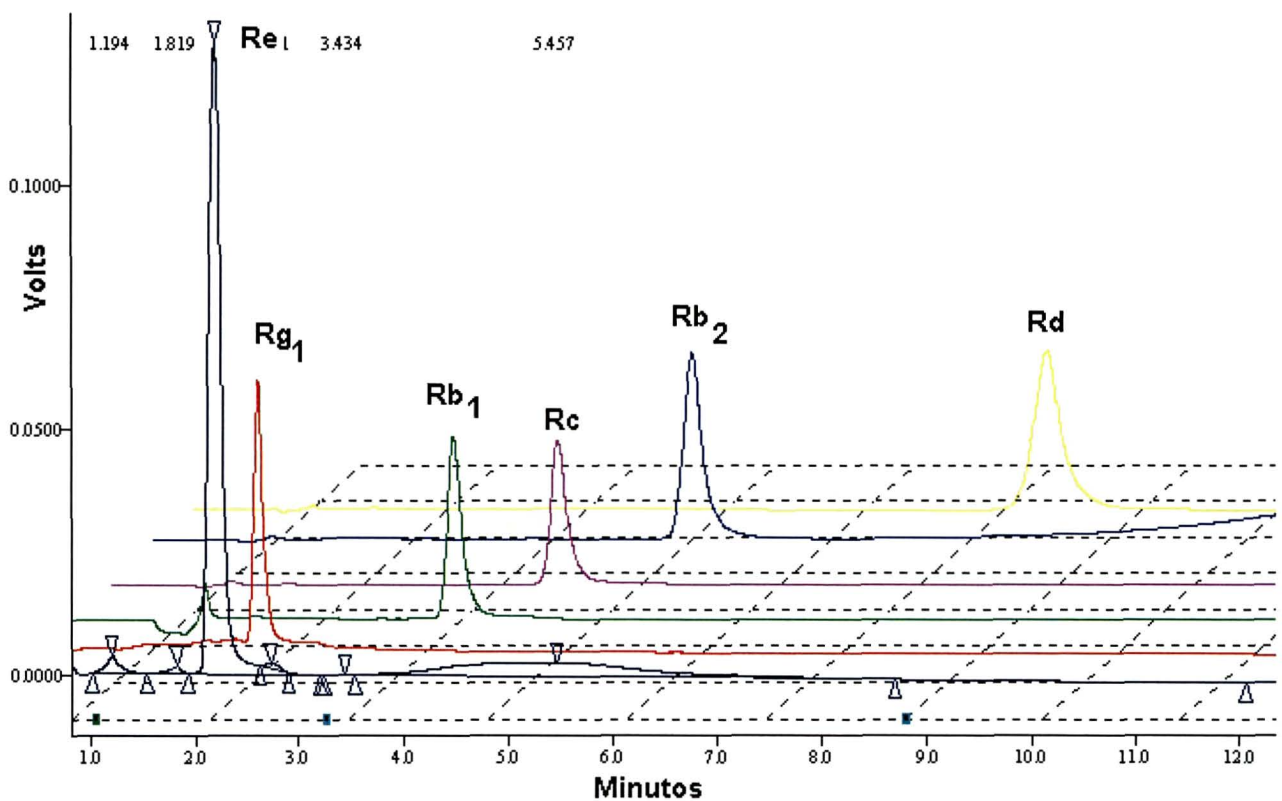
A metodologia B, apresentou uma boa resolução entre picos ($R_{1,2} = 4,62$; $R_{1,3} = 5,2$; $R_{1,4} = 7,42$ e $R_{1,5} = 11,92$) com uma redução nos tempos de retenção de 2,20 a 8,16 min permitindo assim a realização da análise em um tempo significativamente menor, com redução de custos analíticos.

Devido ao fato da mudança do sistema gradiente para o sistema isocrático, não ter comprometido a resolução, possivelmente não existe diferença significativa na polaridade dos ginsenosídeos.

A Figura 11 corresponde ao perfil cromatográfico dos padrões individuais dos ginsenosídeos (Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ e Rd) e a Figura 12 corresponde ao perfil

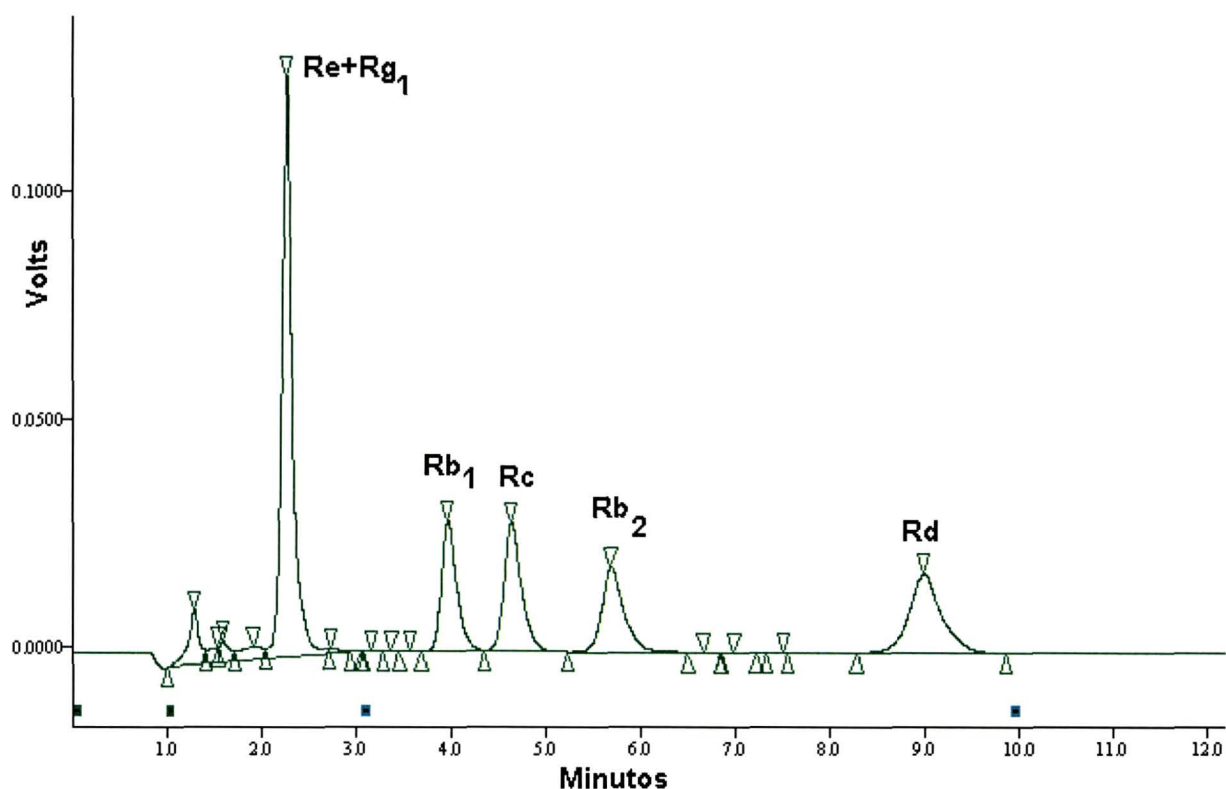
cromatográfico da mistura de ginsenosídeos-padrão (Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ e Rd) na concentração 0,500 mg/mL, analisados segundo a metodologia B descrita em 4.2.5.2 a partir do qual foi determinado o respectivo tempo de retenção

FIGURA 11 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS INDIVIDUALMENTE INJETADOS E SEUS RESPECTIVOS TEMPOS DE RETENÇÃO: Re – 2,188 MIN.; Rg₁ – 2,200 MIN.; Rb₁ – 3,682 MIN.; Rc – 4,280 MIN.; Rb₂ – 5,168 MIN.; Rd – 8,163 MIN. OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B DESCRITO EM 4.2.5.2.



FONTE: O AUTOR

FIGURA 12 - CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ E Rd NA CONCENTRAÇÃO 0,500 mg/mL, OBTIDO ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B DESCRITO EM 4.2.5.2.

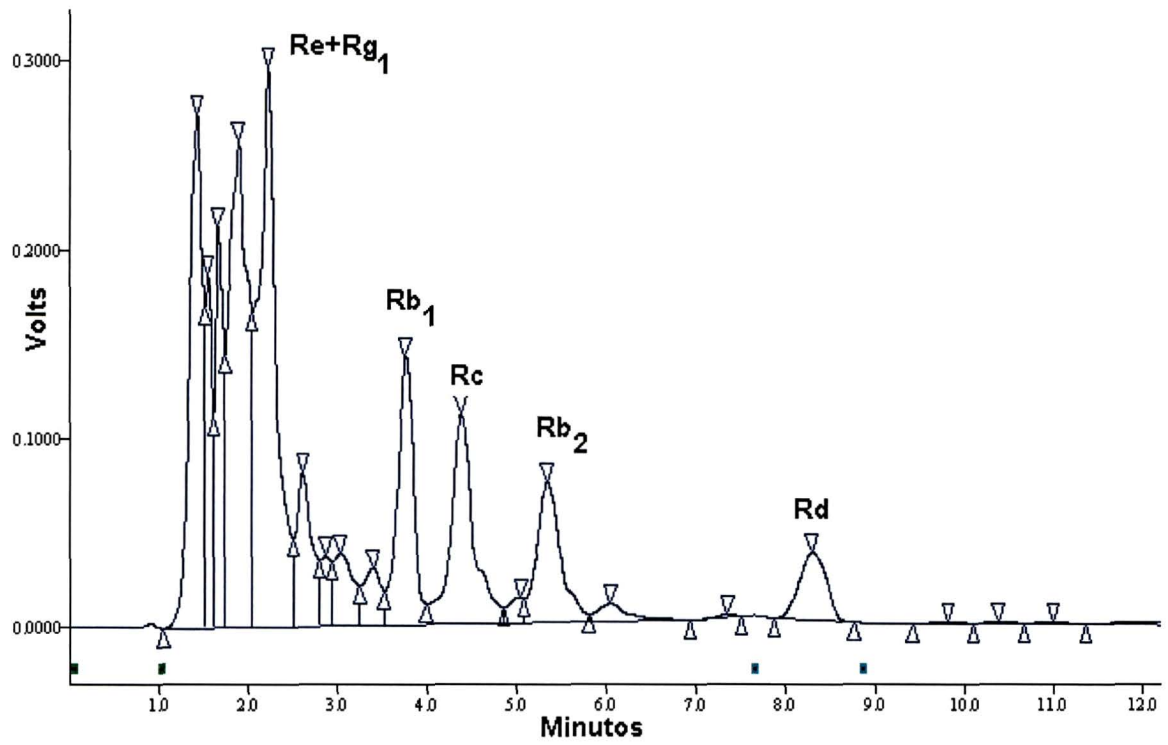


FONTE: O AUTOR

Os cromatogramas obtidos do GP e o EGP (Figura 13 e Figura 14) mostram picos com tempos de retenção semelhantes aos dos padrões de ginsenosídeos (Figura 12).

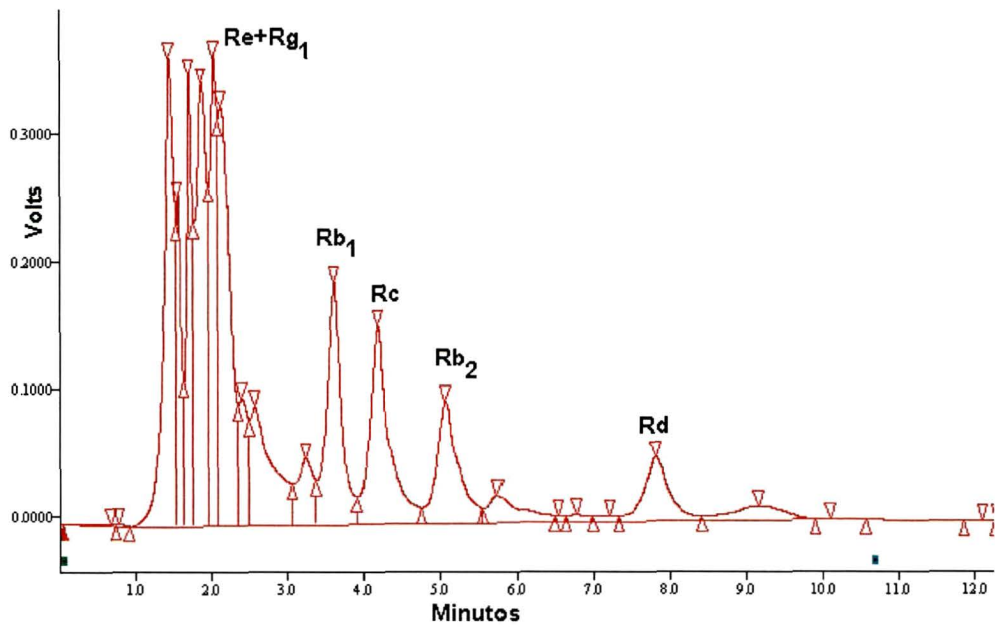
Da análise dos resultados obtidos por CLAE, que confirmam a presença de ginsenosídeos nas amostras analisadas, fica evidente que o EGP e o GP correspondem ao material obtido de ginseng.

FIGURA 13 – CROMATOGRAMA DO GP (MÉTODO B)



FONTE: O AUTOR

FIGURA 14 – CROMATOGRAMA DO EGP (MÉTODO B)



FONTE: O AUTOR

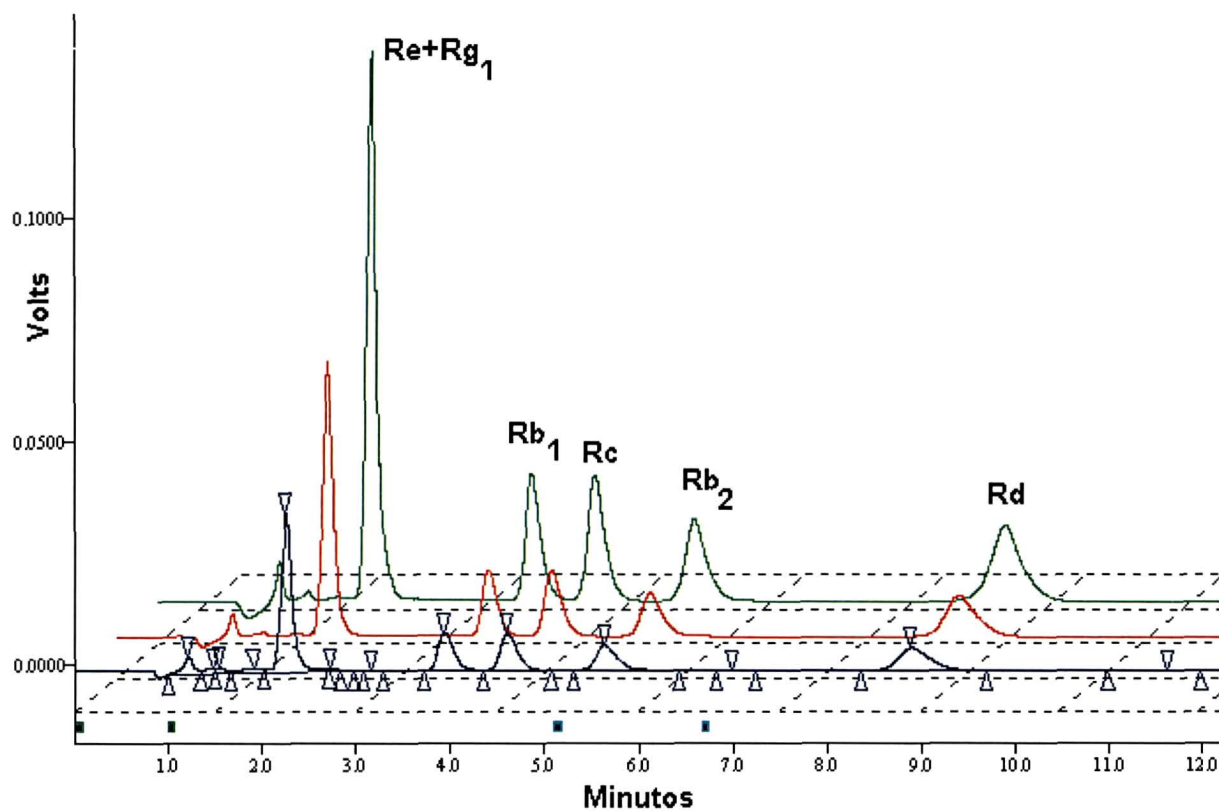
Os cromatogramas obtidos do GP e o EGP (Figura 13 e Figura 14) mostram picos com tempos de retenção semelhantes aos dos padrões de ginsenosídeos (Figura 12).

Da análise dos resultados obtidos por CLAE, que confirmam a presença de ginsenosídeos nas amostras analisadas, fica evidente que o EGP e o GP correspondem ao material obtido de ginseng.

Para o doseamento de ginsenosídeos tanto no EGP e no GP foram feitas curvas-padrão dos ginsenosídeos em diferentes concentrações.

A Figura 15 apresenta o cromatograma obtido com a metodologia B descrita em 5.2.5.2 para as concentrações de 0,125 mg/mL , 0,250 mg/mL e 0,500 mg/mL. Através das áreas de absorvância encontradas para os padrões de ginsenosídeos versus concentração (Tabela 5) obte-se as representações gráficas e respectiva equação da reta como mostrado nas Figuras 16, 17, 18, 19 e 20, determinada através do estudo da regressão linear.

FIGURA 15 – CROMATOGRAMA DA MISTURA DOS GINSENOSÍDEOS PADRÃO DE Re, Rg₁, Rb₁, Rc, Rb₂ E Rd NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,125 mg/mL, 0,250 mg/mL E 0,500 mg/mL, OBTIDOS ATRAVÉS DOS PARÂMETROS DO MÉTODO B, DESCRITO EM 4.2.5.2.



FONTE: O AUTOR

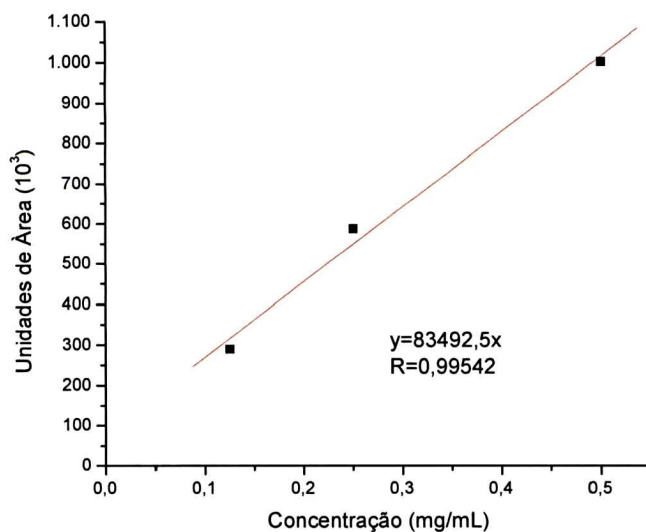
TABELA 5 – LEITURAS DE ÁREAS ENCONTRADAS PARA OS GINSENOSÍDEOS NAS CONCENTRAÇÕES DE 0,125 mg/mL, 0,250 mg/mL E 0,500 mg/mL OBTIDOS A PARTIR DO CROMATOGRAMA APRESENTADO NA FIGURA 15

Padrões(Tempo de Retenção)	Concentração (mg/mL)		
	0,125	0,250	0,500
	Áreas		
Re + Rg ₁ -(2.188+2.200 min)	290617	588202	1002451
Rb ₁ (3.682 min.)	92394	185525	322831
Rc(4.280 min.)	103827	197426	64028
Rb ₂ (5.168 min.)	85910	152835	297306
Rd(8.163 min.)	117518	215635	410663

FONTE: O AUTOR

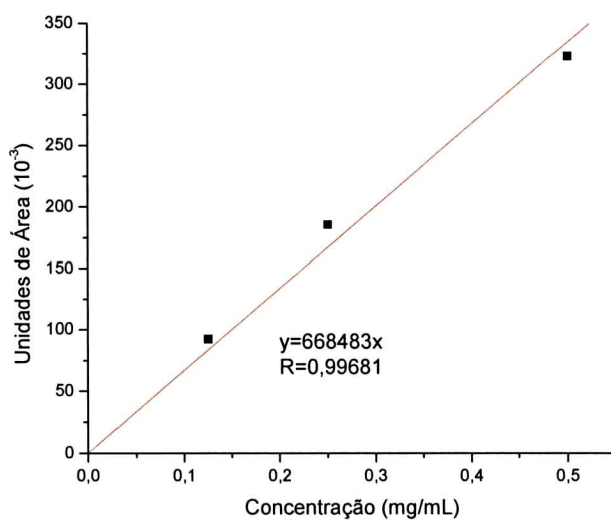
Os valores correspondem às médias das leituras das áreas feitas em triplicata.

FIGURA 16 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS Re + Rg₁, NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM A METODOLOGIA B



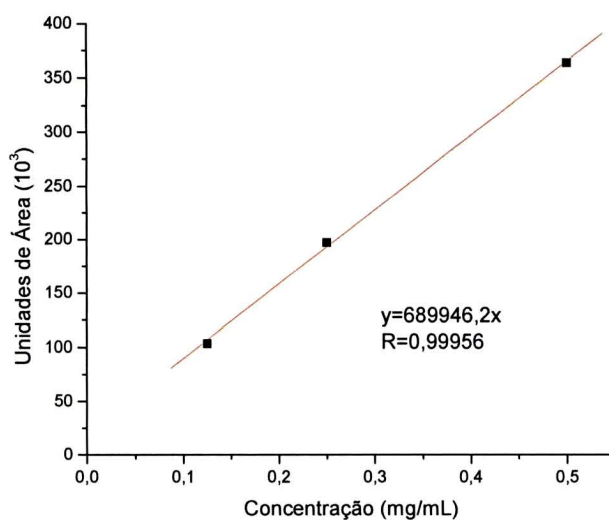
FONTE: O AUTOR

FIGURA 17 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS Rb₁, NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM A METODOLOGIA B



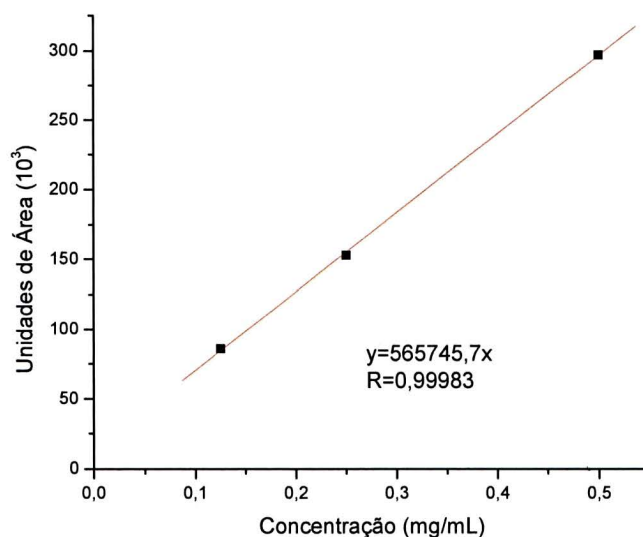
FONTE: O AUTOR

FIGURA 18 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R_c, NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM A METODOLOGIA B



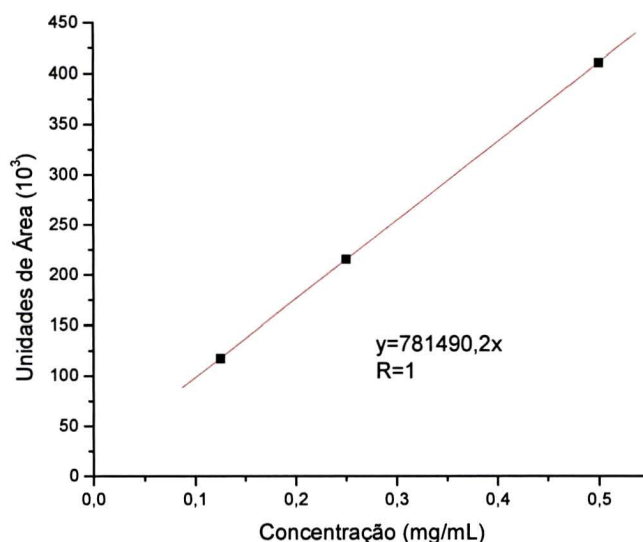
FONTE: O AUTOR

FIGURA 19 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS R_{b2}, NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM A METODOLOGIA B



FONTE: O AUTOR

FIGURA 20 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA CURVA PADRÃO DOS GINSENOSÍDEOS Rd, NA FAIXA DE 0,125 A 0,500 mg/mL, OBTIDA COM A METODOLOGIA B



FONTE: O AUTOR

Para o EGP o resultado de ginsenosídeos totais encontrado foi de 15,53 %, valor abaixo ao especificado no certificado de análise do produto conforme Anexo (2) que era de 27 a 30 % de ginsenosídeo (Método Fotométrico). O resultado do teor de ginsenosídeo expresso em relação aos padrões primários Rg₁ e Rb₁ pelo método CLAE é de 12,5 % segundo certificado de análise, esse documento também afirma que o teor de Rg₁ e Rb₁ não devem ser menores que 7%.

Conforme mostrado na Tabela 6 o valor encontrado para esses ginsenosídeos foi de 7,38 %, que embora esse valor esteja dentro do especificado ele é inferior ao resultado referido no certificado de análise.

Para o GP o teor de ginsenosídeos totais encontrado foi de 3,52 %, valor este acima do teor especificado em literatura (SIMÕES et al. 1999; PHARMACOPOEIA HELVETICA, 1995).

Quando se considera como padrões primários Rg_1 e Rb_1 estes não devem ser menores que 0,2 % e 0,1 % respectivamente.(USP 25)

Conforme mostrado na Tabela 7 o valor encontrado para esses ginsenosídeos foram 0,61 % para Rg_1 e 0,96 % para Rb_1 .

Os parâmetros de qualidade de GP e EGP conforme o certificado de análises (Anexo 2 e a UNITED STATE PHARMACOPEIA Ed. 25)

TABELA 6 – CONCENTRAÇÕES DOS GINSENOSÍDEOS DETERMINADAS SEGUNDO CLAE-MÉTODO B NA AMOSTRA DO EGP

Padrões	Concentração (%)
Re + Rg_1	3,22
Rb_1	4,16
Rc	3,62
Rb_2	3,13
Rd	1,40
Total	15,53

FONTE: O AUTOR

TABELA 7 – CONCENTRAÇÕES DOS GINSENOSÍDEOS DETERMINADAS SEGUNDO CLAE-MÉTODO B NA AMOSTRA DO GP

Padrões	Concentração (%)
Re + Rg_1	0,61
Rb_1	0,96
Rc	0,77
Rb_2	0,78
Rd	0,40
Total	3,52

FONTE: O AUTOR

TABELA 8 – PARÂMETROS DE QUALIDADE PARA O EGP

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
Características físicas	Extrato de coloração bege a ocre com odor característico(1)	De acordo
Identificação	1. Na CCD, no cromatograma da preparação da amostra as manchas devem corresponder em cor e respectivos valores de Rfs dos obtidos no cromatograma da preparação do padrão(2)	De acordo
	2. Na CLAE o cromatograma da preparação da amostra deve ser similar ao da preparação do padrão.	De acordo
Teor	27,0 – 30,0% de ginsenosídeos(1)	15,53%
	Não menos que 7,0 %de ginsenosídeos Rg ₁ e Rb ₁ (1)	7,38 %

FORNE: O AUTOR

NOTA: (1) CONFORME CERTIFICADO DE ANÁLISE (ANEXOS);

(2) CONFORME UNITED STATES PHARMACOPEIA ED 25 (USP 25)

TABELA 9 – PARÂMETROS DE QUALIDADE PARA O GP

TESTES	ESPECIFICAÇÕES	RESULTADOS
Características físicas	Pó de coloração marrom amarelado claro com leve odor aromático(2)	De acordo
Identificação	1. Na CCD, no cromatograma da preparação da amostra as manchas devem corresponder em cor e respectivos valores de Rfs dos obtidos no cromatograma da preparação do padrão(2) 2. Na CLAE o cromatograma da preparação da amostra deve ser similar ao da preparação do padrão.	De acordo De acordo
Teor	Não menos que 0,2 % de ginsenosídeo Rg ₁ Não menos que 0,1 % de ginsenosídeo Rb ₁ (2)	0,61 % de Rg ₁ 0,96 % de Rb ₁

FONTE: O AUTOR

NOTA: (2) CONFORME UNITED STATE PHARMACOPEIA 25 (USP 25)

5.5. CONTROLE DE QUALIDADE DAS CÁPSULAS

As cápsulas de GP, EGP Celulose e EGP Lactose foram submetidas aos ensaios de determinação de peso, doseamento, uniformidade de conteúdo e teste de dissolução. A determinação de peso é efetuada em produtos com dose individual

e outras formas de apresentação, acondicionadas em recipientes de doses múltiplas. Para as formas farmacêuticas tipo cápsulas dura com peso médio até 300 mg o limite de variação é de $\pm 10 \%$, para as que possuem peso médio acima de 300 mg o limite de variação é de $\pm 7,5\%$.

Os resultados da determinação de peso das diferentes fórmulas farmacêuticas em estudo estão apresentados na tabela 10 (Farmacopéia Brasileira IV, 1988).

O teor de ginsenosídeos das cápsulas de GP, EGP-Lactose e EGP-Celulose foram determinados por CLAE e os resultados encontrados por unidade de cápsula, foram 5,28; 2,30 e 2,20 % de ginsenosídeos totais respectivamente.

A uniformidade das doses unitárias de formas farmacêuticas pode ser determinada por dois métodos: variação de peso e uniformidade de conteúdo. O teste de uniformidade de conteúdo é aplicado sempre que a forma farmacêutica contenha menos de 50 % do fármaco por peso total da dose unitária (Farmacopeia Brasileira IV, 1988).

Para as formas farmacêuticas em estudo, consideraram-se os ginsenosídeos como os componentes principais associados à ação farmacológica (SIMÕES, et al. 1999) e como estes se encontram em uma concentração inferior a 50 % do peso total da dose unitária, foi realizado o ensaio de uniformidade de conteúdo.

Nas Tabelas 11, 12 e 13 estão representados os resultados encontrados para GP, EGP-Lactose e EGP-Celulose.

Aplicando-se o critério para avaliação conforme descrito no item 4.2.3.3.3, nenhuma das 10 unidades testadas das diferentes formulações apresentaram teores menores que 85 % e maiores que 115 % do valor obtido no doseamento e o valor do desvio padrão relativo para todas elas foi menor que 6 %. Desta forma ficou caracterizado que todas as formulações atendem ao requisito de uniformidade de conteúdo.

TABELA 10 – RESULTADOS OBTIDOS NA DETERMINAÇÃO DE PESO DE CÁPSULAS CONTENDO O PÓ DA RAIZ DE GINSENG E EXTRATO SECO COM DIFERENTES EXCIPIENTES

Formulação	A	B	C
Cápsula N.º	Peso (g)	Peso (g)	Peso (g)
1	0,3445	0,1218	0,0981
2	0,3696	0,1335	0,1027
3	0,3693	0,1264	0,0977
4	0,3437	0,1331	0,1024
5	0,3459	0,1358	0,0969
6	0,3403	0,1317	0,0992
7	0,3592	0,1310	0,0994
8	0,3747	0,1263	0,0997
9	0,3684	0,1339	0,1000
10	0,3705	0,1375	0,0983
11	0,3612	0,1338	0,0990
12	0,3584	0,1255	0,0975
13	0,3684	0,1244	0,0995
14	0,3427	0,1380	0,1001
15	0,3626	0,1270	0,0999
16	0,3527	0,1299	0,0982
17	0,3570	0,1329	0,0981
18	0,3524	0,1327	0,0994
19	0,3576	0,1314	0,0955
20	0,3568	0,1367	0,0983
Peso Médio	0,3578	0,1312	0,0945

FONTE: O AUTOR

NOTA: A – GP, B – EGP LACTOSE E C – EGP CELULOSE

TABELA 11 - RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO GP .

Cápsulas	Conteúdo unitário (mg)	Teor de ginsenosídeos /unidade em mg					Total
		Re+Rg ₁	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	
1	273,40	0,83	1,52	1,23	1,17	0,49	5,24
2	283,30	0,82	1,50	1,22	1,20	0,49	5,23
3	94,40	0,81	1,50	1,22	1,18	0,46	5,17
4	280,20	0,81	1,53	1,21	1,17	0,46	5,18
5	291,10	0,81	1,50	1,23	1,19	0,47	5,20
6	270,20	0,80	1,52	1,21	1,16	0,48	5,17
7	272,50	0,81	1,51	1,20	1,17	0,46	5,15
8	265,10	0,80	1,52	1,20	1,19	0,49	5,20
9	269,00	0,81	1,50	1,20	1,17	0,48	5,16
10	289,10	0,80	1,50	1,19	1,15	0,47	5,11
Valor Médio	278,83	0,81	1,51	1,21	1,17	0,47	5,18
DPR*	3,68	1,16	0,76	1,13	1,29	2,70	0,74

FONTE: O AUTOR

NOTA: * DPR – DESVIO PADRÃO RELATIVO

TABELA 12 - RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO EGP-LACTOSE

Cápsulas	Conteúdo unitário (mg)	Teor de ginsenosídeos /unidade em mg					Total
		Re+Rg ₁	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	
1	89,60	0,32	0,54	0,85	0,38	0,22	2,31
2	90,70	0,33	0,53	0,86	0,38	0,22	2,32
3	92,00	0,31	0,55	0,92	0,40	0,23	2,41
4	91,80	0,33	0,54	0,85	0,38	0,23	2,33
5	93,20	0,31	0,53	0,85	0,39	0,22	2,30
6	91,20	0,35	0,57	0,86	0,39	0,22	2,39
7	90,90	0,33	0,54	0,86	0,40	0,22	2,35
8	92,30	0,35	0,54	0,85	0,40	0,23	2,37
9	90,60	0,33	0,55	0,86	0,38	0,22	2,34
10	90,60	0,34	0,55	0,86	0,42	0,24	2,41
Valor Médio	91,35	0,33	0,54	0,86	0,39	0,22	2,35
DPR*	1,28	4,27	0,17	0,44	0,37	0,22	1,71

FONTE: O AUTOR

NOTA: * DPR – DESVIO PADRÃO RELATIVO

TABELA 13 - RESULTADOS OBTIDOS NO TESTE DE UNIFORMIDADE DE CONTEÚDO DE CÁPSULAS CONTENDO EGP-CELULOSE

Cápsulas	Conteúdo unitário (mg)	Teor de ginsenosídeos /unidade em mg					Total
		Re+Rg ₁	Rb ₁	Rc	Rb ₂	Rd	
1	55,20	0,56	0,51	0,36	0,21	0,58	2,22
2	56,80	0,56	0,51	0,34	0,23	0,60	2,24
3	54,80	0,55	0,52	0,35	0,23	0,58	2,23
4	59,40	0,57	0,53	0,34	0,22	0,57	2,23
5	62,30	0,56	0,51	0,34	0,21	0,58	2,20
6	61,30	0,55	0,55	0,33	0,19	0,59	2,21
7	60,50	0,57	0,50	0,34	0,22	0,61	2,24
8	61,50	0,56	0,48	0,35	0,20	0,61	2,20
9	56,90	0,56	0,50	0,34	0,20	0,60	2,20
10	58,70	0,55	0,52	0,33	0,20	0,58	2,18
Valor Médio	58,74	0,56	0,51	0,34	0,21	0,59	2,21
DPR*	4,60	1,32	3,70	2,70	6,52	2,39	0,90

FONTE: O AUTOR

NOTA: * DPR – DESVIO PADRÃO RELATIVO

5.6 PERFIL DE DISSOLUÇÃO DAS CÁPSULAS CONTENDO GP

O perfil de dissolução, porcentagem de fármaco dissolvido versus tempo foi realizado para as cápsulas contendo GP.

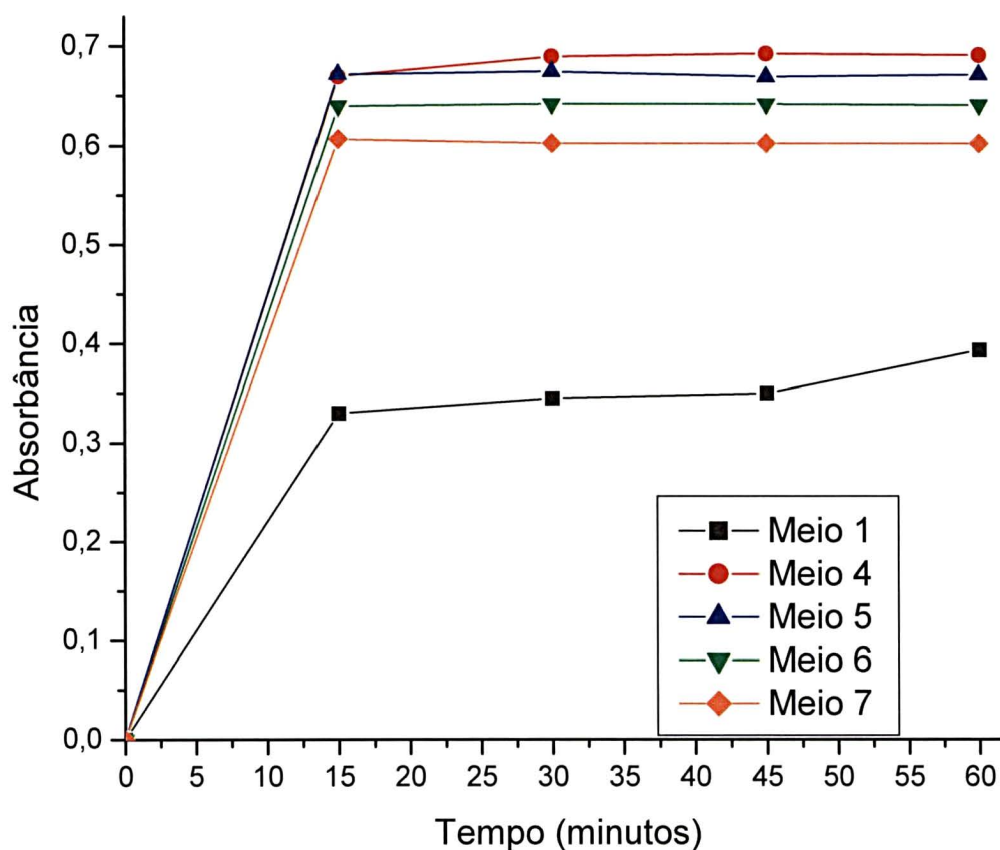
Atualmente não existem modelos e ou especificações oficiais para avaliar a velocidade de dissolução de formas farmacêuticas sólidas de produtos fitoterápicos.

Algumas literaturas recomendam que para medicamentos convencionais (sintéticos) o estudo do perfil de dissolução deve ser determinado em pelo menos 3 meios diferentes na faixa de pH fisiológico (1,0 a 7,5), como por exemplo: ácido clorídrico diluído, água e tampões (acetato, fosfato e ftalato) (FDA HEALTH CANADA, 1996).

Para o estudo do perfil de dissolução utilizaram-se os seguintes meios: (1) HCl - 0,2 mol/L, pH 0,91; (2) Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 3,6; (3) Solução Tampão Ftalato de Potássio 0,2 mol/L, pH 5,6; (4) Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 6,6; (5) Solução Tampão Fosfato de Potássio 0,2 mol/L, pH 7,6; (6) Água destilada, pH 6,84 e (7) Solução de Sørensen, pH 5,76. Destas soluções foram retiradas alíquotas nos tempos 15, 30, 45 e 60 minutos e as absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro de UV-Vis em comprimento de onda 203 nm, cujos resultados estão mostrados na Figura 21.

O meio com pH mais ácido foi o que apresentou menor absorbância caracterizando uma possível menor solubilidade para componentes que absorvem a 203 nm. Os meios (2) solução tampão ftalato de potássio pH 3,6 e (3) solução tampão ftalato de potássio pH 5,6 forneceram leitura de absorbância igual a zero. Os maiores valores de absorbância caracterizando a maior solubilidade dos ginsenosídeos, correspondem aqueles com pH próximo da neutralidade (pH = 7), ou seja, soluções tampão fosfato de potássio pH 6,6 e 7,6 e água destilada pH 6,8. Observa-se também que o perfil de dissolução nestes meios é muito semelhante.

FIGURA 21 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE GP NOS MEIOS (1) HCl - 0,2 mol/L, pH 0,9; (4) SOLUÇÃO TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO 0,2 mol/L, pH 6,6; (5) SOLUÇÃO TAMPÃO FOSFATO DE POTÁSSIO 0,2 mol/L, pH 7,6; (6) ÁGUA DESTILADA, pH 6,8 E (7) SOLUÇÃO DE SÖRENSEN, pH 5,7 E ABSORBÂNCIA DETERMINADA A 203 nm.

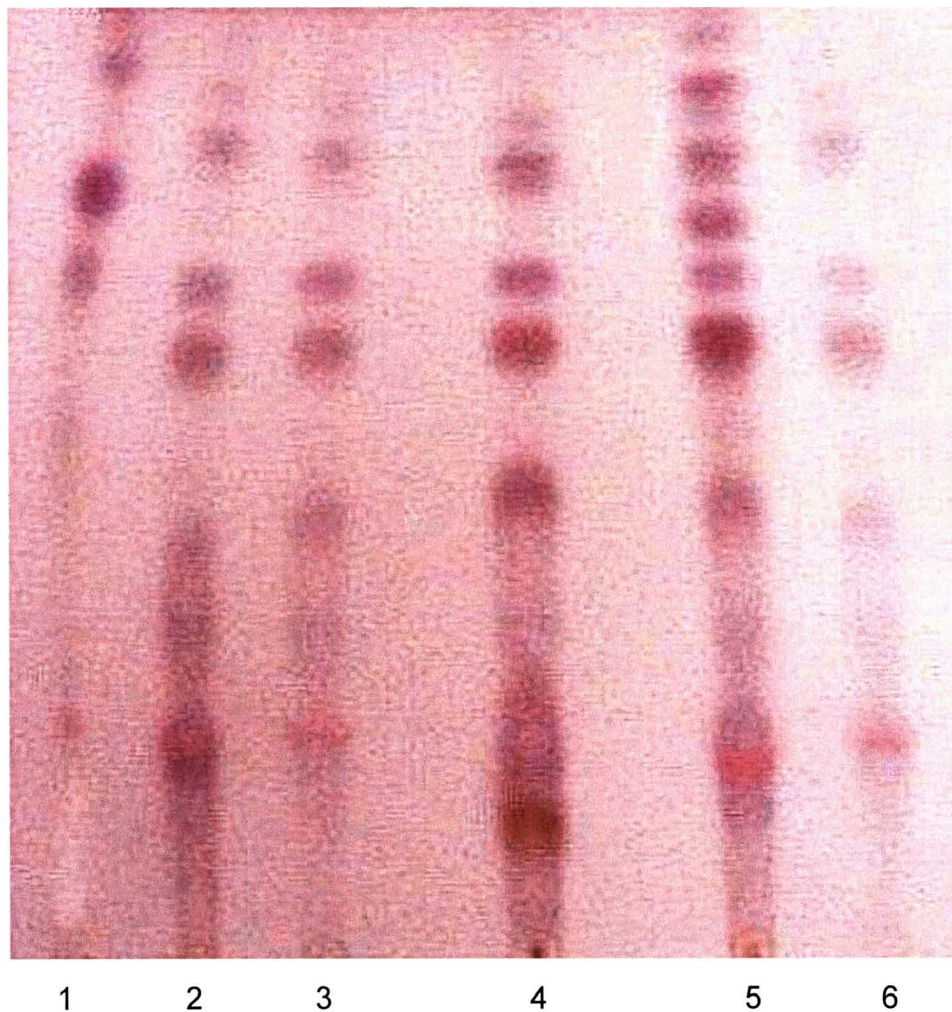


FONTE: O AUTOR

Com o objetivo de avaliar qualitativamente a dissolução dos compostos do ginseng das cápsulas contendo GP em diferentes meios e pHs, alíquotas destes foram retiradas depois de decorridos 60 minutos de ensaio e analisadas por CCD (Figura 22) e CLAE (Método A e Figura 12).

FIGURA 22 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA, DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS CONTENDO PÓ DA RAIZ DO GINSENG, PARA AVALIAÇÃO DA SOLUBILIDADE DOS GINSENOSSÍDEOS EM DIFERENTES pHs E ESCOLHA DO MEIO A SER UTILIZADO NO TESTE DE DISSOLUÇÃO.

SOLVENTE DE CORRIDA: CLOROFÓRMIO : METANOL : ÁGUA (70 : 30 : 4).
REVELADOR: VANILINA FOSFÓRICA. AMOSTRAS CROMATOGRAFADAS: 1- HCL (pH 0,9); 2- TAMPÃO SÖRENSEN (pH 5,7); 3- TAMPÃO FOSFATO (pH 6,6); 4- EGP; 5- ÁGUA DESTILADA (pH 6,8); 6 - TAMPÃO FOSFATO (pH 7,6)



FONTE: O AUTOR

No pH 0,9 foram solubilizados compostos diferentes em comparação com os outros meios de maior pH. Alinha da CCD revela a ausência de alguns compostos presentes nos meios

Através do cromatograma obtido por CCD pode-se observar que o meio água foi o que apresentou perfil cromatográfico mais semelhante ao do EGP utilizado como referência(Linha 4, Figura 22).

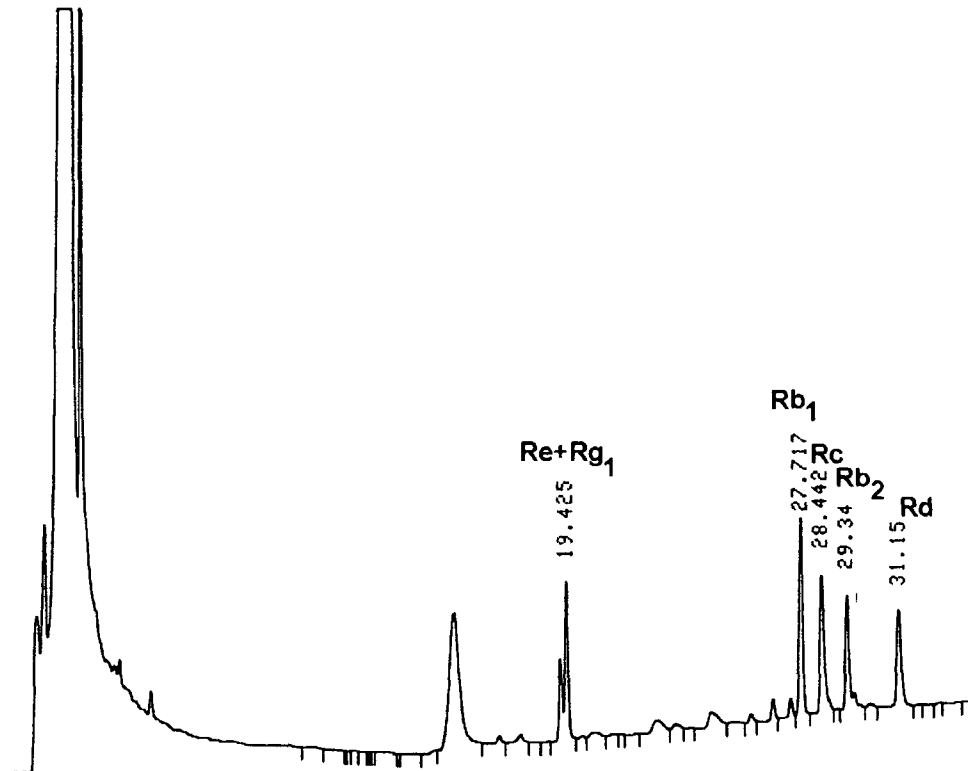
Pelos cromatogramas das Figuras (23; 24; 25; 26 e 27) e Tabela 14 obtidos através de CLAE método A, pode-se observar que em todos os meios, exceto o de HCl, observa-se picos com tempos de retenção semelhantes aos do cromatograma da solução de referência dos ginsenosídeos (Figura12), o que indica que alguma quantidade desses componentes (Rg₁ –t: 19.733 min.; Re – t: 19.9 min.; Rb₁ – t: 28,2 min.; Rc – t: 28.95 min.; Rb₂ – t: 29.792 min.; Rd – t: 31.65 min.) foi solubilizada nesses meios. O meio de dissolução Tampão fosfato tanto pH 6,6 quanto pH 7,6 apresentaram propriedades de solubilização muito parecidas com as do meio água pH 6,8 mostrando-se ambos adequados para o ensaio de dissolução.

TABELA 14 – LEITURAS DE ÁREAS PARA GINSENOSÍDEOS NOS MEIOS UTILIZADOS PARA O ENSAIO DE PERFIL DE DISSOLUÇÃO

Leitura de Área dos Meios – Metodologia A					
Ginsenosídeos	HCl pH 0,9	H ₂ O pH 6,8	Tampão pH 6,6	Tampão pH 7,6	Sörensen pH 5,7
Re + Rg ₁	0	399016	264771	342283	320032
Rb ₁	0	443148	360534	395487	306018
Rc	0	450681	333377	297513	299375
Rb ₂	0	485852	223318	267949	259280
Rd	0	159758	174499	159758	254371

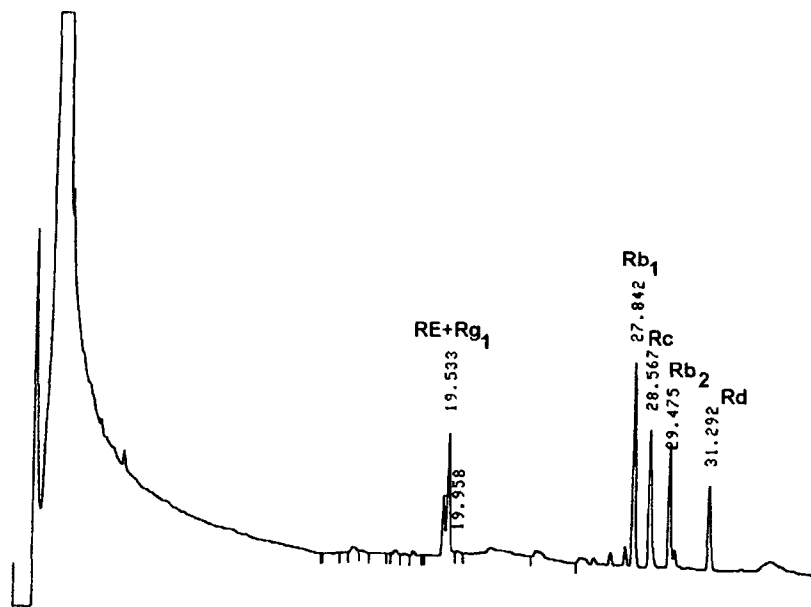
FONTE: O AUTOR

FIGURA 23 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ E Rd) NO MEIO SORENSEN pH 5,7



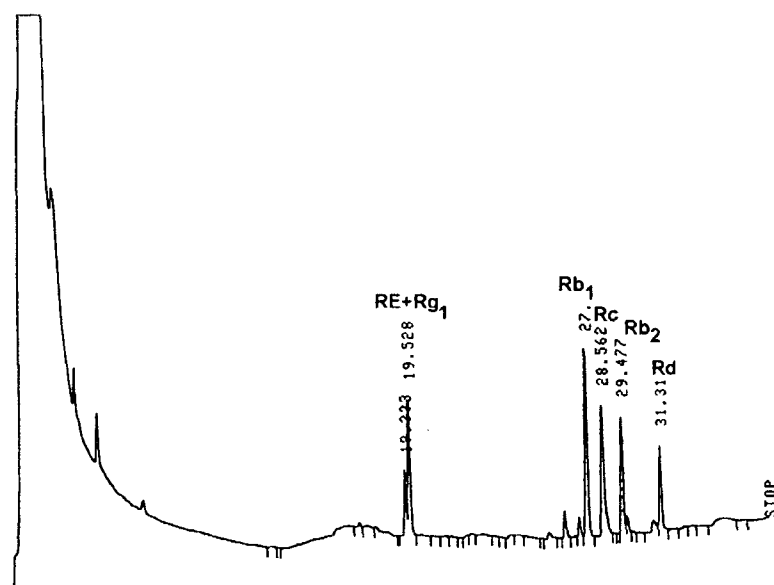
FONTE: O AUTOR

FIGURA 24 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ E Rd) NO MEIO H₂O pH 6,8



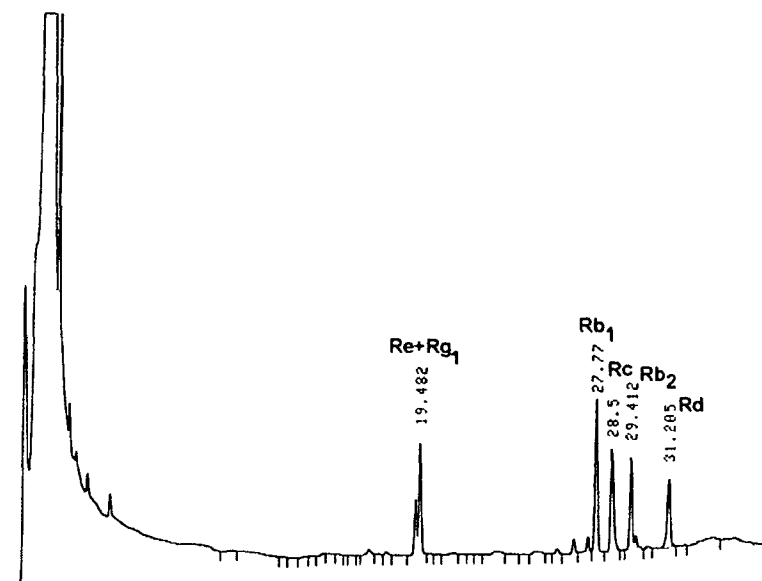
FONTE: O AUTOR

FIGURA 25 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ E Rd) NO MEIO TAMPÃO pH 6,6



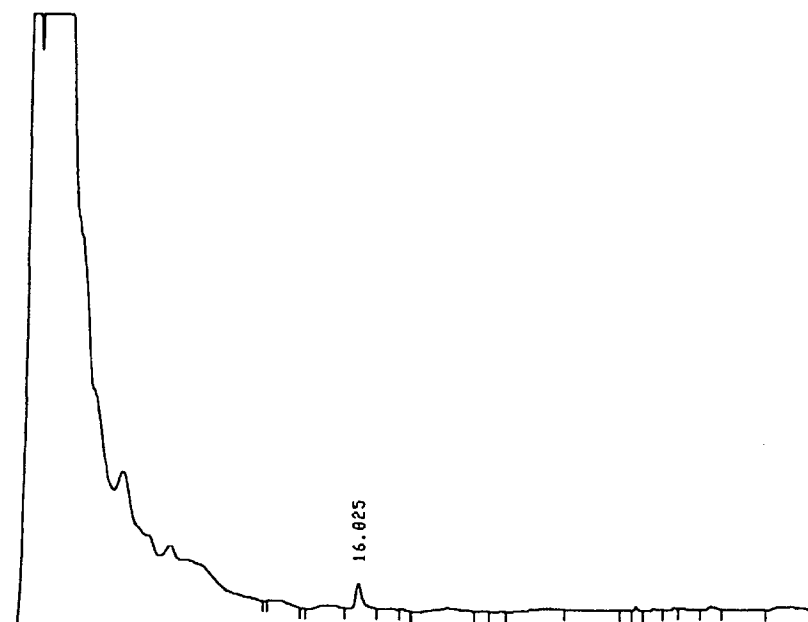
FONTE: O AUTOR

FIGURA 26 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ E Rd) NO MEIO TAMPÃO pH 7,6



FONTE: O AUTOR

FIGURA 27 - CROMATOGRAMA DOS GINSENOSÍDEOS (Re+Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ E Rd) NO MEIO HCl pH 0,9

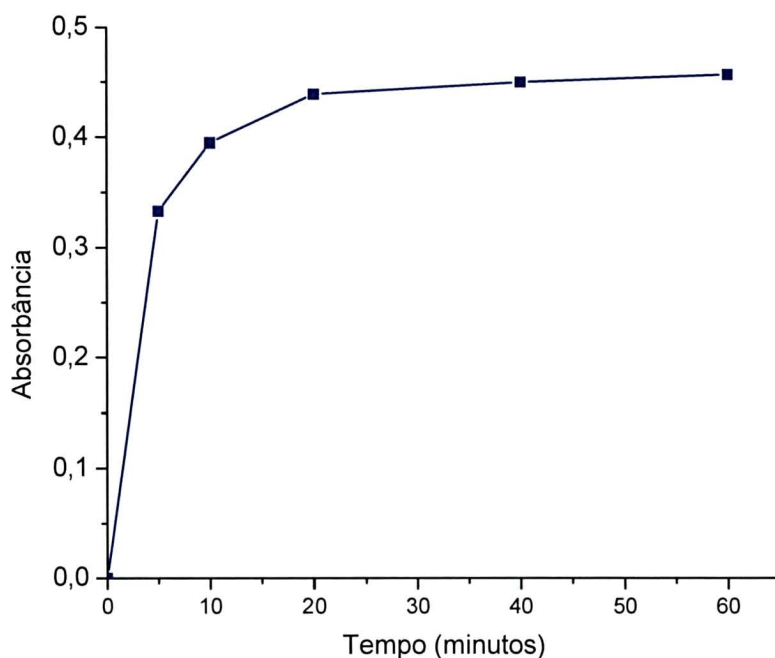


FONTE: O AUTOR

Na escolha do meio deve-se levar em consideração também fatores analíticos e custos, por esta razão, a água é o meio de dissolução preferencial. Segundo USP, na seleção do meio de dissolução deve se dar preferência a água (UNITED STATES PHARMACOPEIA ED 25) e segundo COHEN, et al. 1990 a água é considerada o meio de dissolução ideal.

Sendo o meio de escolha a água, foi realizado ensaio de perfil para as cápsulas de GP. Neste ensaio a rotação do sistema foi de 75 rpm e as alíquotas foram retiradas nos tempos 5, 10, 20, 40 e 60 minutos. Após filtração, uma parte do filtrado foi diluída 10 vezes e o restante analisado por UV-Vis a 203 nm (Figura 28). O restante do filtrado foi levado à secura e avolumado com solução acetonitrila:água (35:65) para cromatografia em CLAE .

FIGURA 28 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE CÁPSULAS DE GP EM ÁGUA pH 6,8 E ABSORBÂNCIA A 203 nm



FONTE: O AUTOR

Na Figura 29, observa-se que após 40 minutos os valores de absorvância atingiram valores máximos que não se modificaram até 60 minutos. Isto indica que a concentração de substâncias contendo cromóforos que absorvem em 203 nm passou a ser constante.

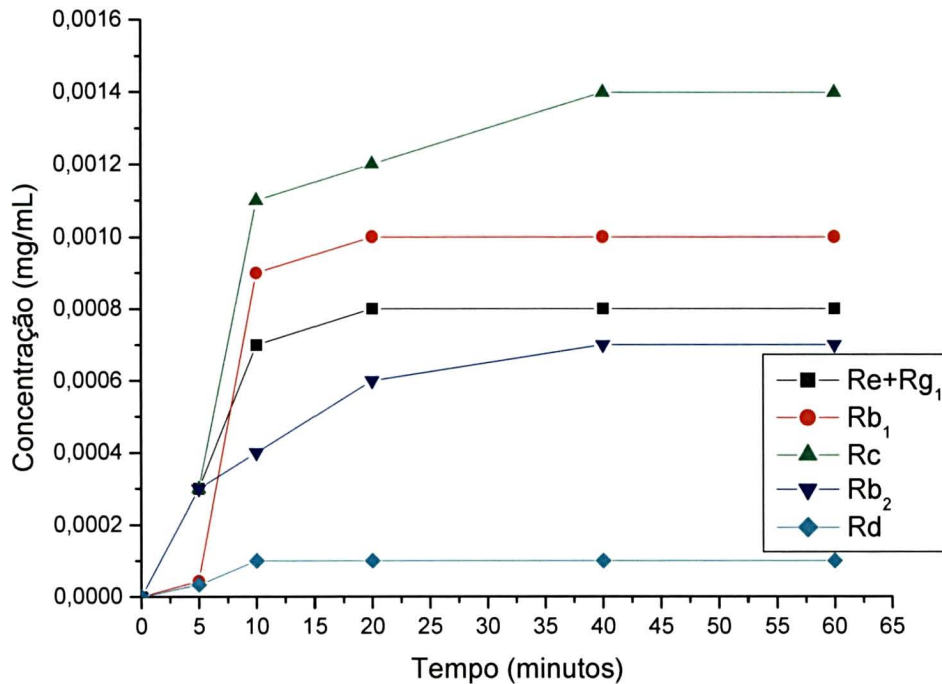
Pelo perfil gráfico da CLAE (Figura 29) pode-se observar que houve solubilidade para todos os ginsenosídeos (Re; Rg₁; Rb₁; Rc; Rb₂ e Rd) sendo que após 40 minutos as concentrações mantiveram-se constantes. Observa-se também que o perfil de dissolução de todos os meios na água são semelhantes.

As menores concentrações dissolvidas correspondem ao Rd, em concordância com o doseamento das cápsulas de GP, onde este apresentou a menor concentração.

O ginsenosídeo Rc foi o que apresentou maior concentração no tempo de 60 minutos.

Quando se comparam os resultados do doseamento do GP com os resultados do perfil de dissolução destes pode-se sugerir que não houve uma solubilização completa do Rb₁, tendo em vista, que no doseamento este apresentou um teor maior que o Rc ao contrário do que foi observado neste ensaio (Figura 29).

FIGURA 29 – PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE GINSENOSÍDEOS DE CÁPSULA DE GP EM ÁGUA PH 6,8 QUANTIFICADOS POR CLAE METODOLOGIA A, ABSORBÂNCIA A 203 nm, ROTAÇÃO DO SISTEMA 75 rpm



FONTE: O AUTOR

5.7 DISSOLUÇÃO DAS CÁPSULAS DE GP E EGP

Os resultados obtidos para o ensaio de dissolução das cápsulas GP, EGP-Lactose e EGP-Celulose estão mostrados nas tabelas 15, 16 e 17.

Segundo a Farmacopeia Brasileira IV a amostra será satisfatória quanto ao ensaio de dissolução para forma farmacêutica cápsula se no primeiro estágio (E1) cada uma das 6 unidades individualmente apresentar resultados iguais ou maiores que $T + 5\%$. Nessa análise T representa a quantidade de ingrediente ativo dissolvido especificado na monografia individual, expresso como uma porcentagem do

conteúdo do rotulado. Em geral, para a maioria dos fármacos encapsulados o valor de T corresponde a 80% do valor rotulado, valor este utilizado como parâmetro no critério de aceitação para este ensaio.

TABELA 15 – CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE GP EM ÁGUA

Cápsulas	mg de ginsenosídeo totais dissolvidos	% de Cedência
1	3,63	68,75
2	3,65	69,12
3	3,44	65,15
4	3,44	65,15
5	3,41	64,60
6	3,43	65,00
Média	3,50	66,30

FONTE: O AUTOR

TABELA 16 – CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE EGP-LACTOSE EM ÁGUA

Cápsulas	mg de ginsenosídeo totais dissolvidos	% de Cedência
1	2,26	98,26
2	2,28	99,13
3	2,29	99,56
4	2,27	98,69
5	2,27	98,69
6	2,22	96,52
Média	2,26	98,48

FONTE: O AUTOR

TABELA 17 – CEDÊNCIA DE CÁPSULAS DE EGP-CELULOSE EM ÁGUA

Cápsulas	mg de ginsenosídeo totais dissolvidos	% de Cedência
1	2,18	99,09
2	2,18	99,09
3	2,19	99,54
4	2,19	99,54
5	2,20	100,00
6	2,18	99,09
Média	2,19	99,40

FONTA: O AUTOR

Para as cápsulas de GP o valor médio de ginsenosídeos totais solubilizados foi de 3,50 mg/unidade, ou seja, uma cedência média de 66,30% do valor rotulado, não sendo portanto aprovado neste estágio (Tabela 15).

As cápsulas de EGP-Lactose e EGP-Celulose apresentaram uma porcentagem de cedência média 98,48% e 99,40% respectivamente (Tabela 16 e 17), acima do limite mínimo ($T + 5\%$), sendo portanto ambas aprovadas no primeiro estágio (E1). Este resultado já era esperado tendo em vista que EGP foi obtido por um processo que envolve uma extração sólido-líquido, usando diferentes técnicas que podem possibilitar uma extração eficiente com posterior pulverização. O processo de solubilização prévia libera mais facilmente os ginsenosídeos. Por outro lado, na droga simplesmente pulverizada os ginsenosídeos encontram-se compartimentalizados em estruturas celulares das quais serão liberados por difusão e solubilização. A eficiência desses processos depende da característica da droga, do grau de cominuição, da composição química, do solvente utilizado e do tempo de contato. Tais parâmetros se interrelacionam e um equilíbrio ótimo dos mesmos deve de ser encontrado para cada droga (WIJESEKERA, 1991).

Os resultados no ensaio de dissolução confirmam que as cápsulas de EGP apresenta uma biodisponibilidade maior que as de GP.

Pelo mesmo motivo pode-se supor também que não deve existir bioequivalência entre formas farmacêuticas de EGP e GP contendo o mesmo teor de ginsenosídeos totais.

Dependendo das características da droga, da parte usada e da composição química, as diferenças de solubilidade para os componentes químicos da droga pulverizada e do extrato pulverizado poderá ser significativa, podendo até comprometer a eficácia do fitofármaco. Estes fatos justificam a necessidade da realização do ensaio de dissolução também para os produtos fitoterápicos, mesmo que seja em relação a um metabólito específico.

6 CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos na análises de GP e EGP pode-se concluir:

- A otimização da metodologia da UNITED STATES PHARMACOPEIA 24, para análise de ginsenosídeos, com a modificação do sistema de eluição de gradiente para isocrático não comprometeu a resolução cromatográfica mantendo-se praticamente o mesmo perfil gráfico, com uma redução significativa nos tempos de retenção, permitindo a realização da análise em um tempo significativamente menor e com redução de custos analíticos.
- O ginseng pulverizado (GP) apresentou um teor de ginsenosídeo de 16% acima dos valores da literatura enquanto que o extrato de ginseng pulverizado (EGP) apresentou apenas 50% do valor especificado no certificado de análise.
- Todas as formulações de ginseng pulverizado, cápsulas de extrato pulverizado de ginseng diluído com lactose e cápsulas de ginseng pulverizado diluído com celulose apresentaram-se satisfatórias quanto aos parâmetros de qualidade: determinação de peso, doseamento e uniformidade de conteúdo em ginsenosídeo, portanto adequadas para realização do ensaio de dissolução.
- No estudo do perfil de dissolução com cápsulas contendo ginseng pulverizado os maiores valores de absorbância, e possivelmente a maior solubilidade dos ginsenosídeos, ocorreram naqueles meios com pH próximo da neutralidade (tampão fosfato pH 6,6 e 7,6 e água destilada pH 6,8).

- Pelo estudo de dissolução conclui-se que as cápsulas de ginseng pulverizado apresentaram uma porcentagem de cedência menor do que as cápsulas de extrato de ginseng pulverizado em lactose e celulose e que possivelmente não deve existir bioequivalência entre formas farmacêuticas de EGP e GP contendo o mesmo teor de ginsenosídeos totais.

- Os excipientes lactose e celulose não influenciaram significativamente a dissolução dos ginsenosídeos nas cápsulas contendo extrato pulverizado de ginseng

- Os resultados encontrados refletem a importância da realização do ensaio de dissolução também para os produtos fitoterápicos

REFERÊNCIAS

ANDERSON, N. H.; BAUER, M.; BOUSSAC, N. Na evaluation of fit factors and dissolution efficiency for the comparison of in vitro dissolution profiles. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 17, p. 811-822, 1998.

ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability & bioequivalence**. Easton: Mack Publishing, p. 554, 1989

ACHANTA, A. S.; GRAY, V. A; CECIL, T.L.; GRADY, L.T. Evaluation of the performance of prednisone and salicylic acid USP dissolution calibrators. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 21, n. 10, p. 1171-1182, 1995.

ARANCÍBIA, A. Estudio, diseño y formulación de preparados farmacéuticos de acción sostenida. **Farmaco, Ed. Prat.**, v. 27, n. 4, p. 181-204, 1972.

BALDWIN C. A. What pharmacists should Know about ginseng. **Pharm J.** v. 237, p. 583-586, 1986.

BARANOV, A.L. Medicinal uses of ginseng and related plants in the Soviet Union: recent trends in the Soviet literature. **J. Ethnopharmacol.**, v.6, p. 339-353, 1982.

BERTÉ F. **Toxicological investigation of the standardized ginseng extract G115 after unique administration [LD₅₀]**, p. 1-12, 1982.

BISSET, N.G. (Ed.). **Herbal drugs and phytopharmaceuticals**. Stuttgart: Medpharm, 1994.

BRADLEY, P.R. (Ed.). **British Herbal Compendium**. Bournemouth: British Herbal Medicine Association. V.1, p. 17-26, 1967.

BREKHMANN, II. Panax ginseng – 1. **Med. Sci. Service**, 1967; n. 4: 17-26.

BRITISH Herbal Pharmacopoeia 1990. Bournemouth: British Herbal Medicine Association, 1990. V. Q

BUENO, J. H. F. Comprimidos de carbonato de lítio: influência da técnica de obtenção na velocidade de liberação do princípio ativo. **Rev. Cien. Farm.**, São Paulo, v. 11, p. 151-159, 1989.

BRASIL. Decreto nº 79.094, de 5 de janeiro de 1977. Submete a sistema da vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 5 jan. 1977. Disponível em: <http://www.pragas.terra.com.br/legislacao/bancodedados/decreto79094.html>

BRASIL. Lei nº6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância a que ficam sujeitos medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 24 set. 1976 Disponível em: <http://www.pragas.terra.com.br/legislacao/bancodedados/lei6360.html>

BRITISH Herbal Pharmacopoeia. 4. ed. England: British Herbal Medicine Association, 1996. p. 89-90.

BRITISH Herbal Pharmacopoeia. England: British Herbal Medicine Association, 1995. p.152-153.

CÁRCAMO, E. C. **Cinética de disolución de medicamentos**. Washington: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, p.102, 1981.

CÁRCAMO, E. C. **Control de calidad biofarmaceutico de medicamentos**. Santiago : Imprensa Balgraf , p.362, 1992.

CHANG Y.S.; PEZZUTO I. M.; FONG, H.H.S.; FAINSWORTH, N.R.. Evaluation of the mutagenic potential of American ginseng (*Panax quinquefolius*). **Planta Med.**, v. 52, p. 338, 1986.

CHATTARAJ, S. C.; DAS, S.K.; KARTHIKEYAN, H.; GHOSAL, S.H.; GUPTA, B.K. Controlled theophylline release from microcapsules of acrylic & methacrylic acid ester copolymer. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 17, n. 4, p. 551-560, 1991.

CASTRO, W. V. **Desenvolvimento de comprimidos gastro-resistentes de diclofenaco sódico 50 mg: estudo de similaridade, cinética de dissolução e estabilidade**. Belo Horizonte, 2000. 155 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais.

COHEN, J. L.; HUBERT, B.B.; LUSON, L.I.; RHODES, C.T.; ROBINSON, I.R.; ROSEMAN, T.I.; SHEFTU, E.. The development of USP dissolution and drug release standards. **Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 10, p. 983-987, 1990.

CONTE, U.; COLOMBO, C.; CARAMELLA, C.; LA MANA, A. Presscoated, zero order drug delivery systems. **Farmaco, Ed. Pr.**, v. 39, n. 3, p. 67-75, 1984.

COUNCIL OF EUROPE. 3 ed. Favouring substances and natural sources of flavourings. Strasbourg: Maisonneuve, 1981.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. New York: New York Botanical Garden, 1988.

D'ANGELO, L.; GRIMALDI, R.; CARAWAGGI, M.. A double-blind, placebo-controlled clinical study on the effect of a standardized ginseng extract on psychomotor performance in healthy volunteers. **J. Ethnopharmacol.** v. 16, p.15-22, 1986.

DAS, S. K. In vitro dissolution profile of theophylline loaded ethyl cellulose microspheres prepared by emulsification solvent evaporation. **Drug. Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 17, n. 18, p.2521-2528, 1991.

DAVIDSON, A. G. A multinational survey of the quality of carbamazepine tablets. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 21, n. 19, p. 2167-2186, 1995.

DELUCCHI, Z. M.; GOMEZ, S. V.; ARANGUIZ, B. T.; JARAMILLO, M. V.; BRAVO, F. J.; CORDERO, R. M. Cinética de trituración y su efecto sobre propiedades granulométricas y velocidad de disolución de droga poco soluble: sulfadiazina. **Farmaco, Ed. Pr.**, v. 40, n. 1, p.22-32,1984.

DUKE, James A. **The green pharmacy: new discoveries in herbal remedies for common diseases and conditions from the world's foremost authority on healing herbs.** Seattle: Sylvan Press, 1996. p. 132-133.

EVANS, W. C. **Trease and evans' pharmacognosy.** 14. ed. London: WB Saunders, 1999. p. 300-303.

EL-ARINI, S. K.; SHIU, G. K.; SKELLY, J. P. Na in vitro study of possible food-drug interactions of the controlled-release propranolol products. **Int. J. Pharma.**, Amsterdam, v. 55, n.1, p.25-30, 1989. .

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, pt. 1, 1988

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed. São Paulo, pt. 2, 1996.

FILARETOV, A. A.; BOGDANOVA, T.S.; PODVIGINA, T.T.; BOGDANOV, A.I. Role of pituitary-adrenocortical system in body adaptation abilities. **Exp. Clin. Endocrinol.**, v. 92, p. 129-136, 1988.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Drug Evaluation and Research. Reviewer guidance. **Validation of chromatographic methods.** Nov. 1994. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/cmc3.pdf>

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Drug Evaluation and Research. **The biopharmaceutics classification system (BCS) guidance.** Jun. 2001. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/OPS/BCS_guidance.htm >

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Drug Evaluation and Research. **Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system.** Aug. 2000. Disponível em: <http://www.cmcissues.com/fda/biowaiver.htm>

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry. **Immediate-release solid oral dosage forms – scale-up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls, in vitro dissolution testing and in vivo bioequivalence documentation.** Nov. 1995.

FRANCO, L. L. **As sensacionais 50 plantas medicinais, campeãs de poder curativo.** [S. l.]: Ed. Santa Mônica. v. 1, p. 139-140, 1996.

HEALTH CANADA [on line]. A. **Drugs directorate: bioequivalence of proportional formulations – solid oral dosage forms** [on line]. Ottawa, Mar. 1996. Disponível em: http://www.hc-sc.gc.ca/hpb-dgps/therapeut/zfiles/english/policy/issued/bioprop_e.html

HIKINO, H.; HISO, Y.; KINOUCI, I.; SANADA, S.; SHOJI, I.. Antihepatotoxic actions of ginsenosides from *Panax ginseng* roots. **Planta Med.** v. 51, p. 62-64, 1985.

HOPKINS, M.P.; ANDROFF, L.; BENNINGHOFF, A. S.. Ginseng face cream and unexplained vaginal bleeding. **J Obstet. Gynecol.**,v. 159, p. 1121-1122, 1988.

IWABUCHI, H.; YOSHIKURA, M.; KAMISAKO, W.. Studies on the sesquiterpenoids of *Panax ginseng* C.A Meyer II. Isolation and structure determination of ginseno, a novel sesquiterpene alcohol. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 36, p. 2447-2451, 1988.

JOLY, A. B. **Botânica: Introdução a Morfologia Vegetal.** São Paulo: Nacional, 1998.

JONES, B. D.; RUNIKIS, A.M. Interaction of ginseng with phenelzine. **J. Clin. Psychopharmacol.** v. 7, p. 201-202, 1987.

JU, H. L. On the assessment of similarity of drug dissolution profiles: a simulation study. **Drug Information Journal**, v.31, p. 1273-1289, 1997.

KUU, W.; PRISCO, M.R.; WOOD, R.W.; ROSEMAN, T.I.. Studies of dissolution behavior of highly soluble drugs using a rotating disk. **J. Pharma.**, Amsterdam, v. 55, n. 1, p. 77-89, 1989.

LANÇAS, F.M. **Cromatografia em fase gasosa.** São Carlos: Acta, p. 16-21, 1993.

LANG, B. In vitro drug release rate as a standard requirement. **Pharmazie**, Berlin, v. 26, n. 11, p. 661-664, 1971.

LEITE, F. **Validação em análise química.** Campinas: Editora Átomo, 4 ed., p. 69-72, 2002.

LE BLANC, P.P.; AIACHE, J.M.; BESNER, J.G.; BURI, P.; LESNE, M. **Tratado de Biofarmácia e Farmacocinética.** Instituto Piaget. 396 p., 1997.

LEUNG AY. **Encyclopedia of common natural ingredients used in food, drugs and cosmetics.** New York: Wiley, 1980.

LEE, F.C.; KO, I.H.; PARK, I.K.; LEE, J.S. Effects of *Panax ginseng* on blood alcohol clearance in man. **Clin. Exp. Pharmac. Physiol.**, v. 14, p. 543-546, 1987.

- LI, T. B.; NG, T.B.; YEUNG, H.W. Effects of ginsenosides, lectins and *Momordica charantia* insuli-like peptide on corticosterone production by isolated rat adrenal cells. **J. Ethnopharmacol**, v. 21, p. 21-29, 1987.
- LI, X. J.; ZHANG, B. H. Studies on the antiarrhythmic effects of panaxatriol saponins (PTS) isolated from *Panax notoginseng*. **Acta Pharm. sin**, v. 23, p. 168-173, 1987.
- LOGGIA, R.D. **Piante Officinali per infusi e Tisane**. Manuale per Farmaciste e Medici. Ed. OEMS Milano, p.236-238, 1993.
- MANREN, R. Calcium antagonistic action of saponins from *Panax notoginseng* (saqi-ginseng). **J. Trad. Chinese Med.**, v. 7, p. 127-130, 1987.
- MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. **Physical Pharmacy**. London: Lea & Febiger, 1993. 324-361 p.
- MARTINDALE. **The Extra Pharmacopoeia: 30th edition**. London: The Pharmaceutical Press, 1993.
- MEHTA, A. C. Guidelines on dissolution testing of solid oral dosage forms. **Pharm. J.**, v. 253, p. 844-846, 1994.
- MICHILES, E. Produtos fitoterápicos: boas práticas de fabricação. **Revista Racine**, v. 7, p. 40-45, set./out. 1996.
- MILLS SY. **The dictionary of modern herbalism**. Wellingborough: Thorsons, 1985.
- NAKAGAWA S.; YOSHIDA, S.; HIRAO, Y.; ITASUGA, S.; FUWA, T.. Cytoprotective activity of components of garlic, ginseng and ciuwjia on hepatocyte injury induce by carbon tetrachloride in vitro. Hiroshima, **J. Med. Sci.**, v. 34, p. 303-309, 1985.
- NAMBA, T.; YOSHIKOK, M.; TOMIMORI, T.; KOBASHI, K.; MITSUI, K.; HASE, J. Fundamental studies on the evaluation of the crude drugs (I): hemolytic and its protective activity of ginseng saponins. **Planta Média**, v. 28, p. 28-38, 1974.
- NEWALL, C. A.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Herbal medicines: a guide for health-care professionals**. London: The Pharmaceutical Press, p. 141-150, 1996.
- NOORY, C. **Steps for development of a dissolution test for sparingly water-soluble drug products. food and drug administration**. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, MD [on line]. Disponível em: <http://www.dissolutiontech.com/DTresour/200articles/200art3.html>
- OLIVEIRA, M. **Avaliação da Qualidade e estudos de estabilidade e de dissolução de comprimidos tamponados Mastigáveis de Didanosina 100 mg**. Belo Horizonte, 2001. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdades de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais.

OLIVEIRA, F. de; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Contribuição para o estudo farmacognóstico do "Ginseng brasileiro" *Pfaffia paniculata* (Martius) Kuntze. **An. Far. Quim**, São paulo, v.20, n. 1/2, p. 261-277.

PDR for herbal medicines. 2. ed. Montvale, New Jersey: Medical Economics Company, 2000. p. 346-351.

PEIGEN, X.; KEJI, C. Recent advances in clinical studies of Chinese medicinal herbs. 2. Clinical trials of Chinese herbs in a number of chronic conditions. *Phytotherapy*, v. 2, p.55-60,1998.

PHARMACOPOEIA Helvetica. 7. ed. Berne: Department Federal de L'Interieur, 1995. p. 141-142.

PINHO, J. J. R. G. Desenvolvimento de comprimidos e metformina de liberação convencional e modificada: influência dos excipientes sobre o perfil de dissolução e avaliação termoanalítica. São Paulo, 1999. 215 p. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - USP.

PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R.M.R. **Tecnologia Farmacêutica e Fármacia Galênica**. v. I; II; III. Calouste Gurbenkian, 4. Ed. 1995.

REIS A. M. M.; RESENDE, D. C.; MOREIRA-CAMPOS, L. M. **Teste de controle de qualidade de medicamentos**. Belo Horizonte: SBRAFH, p.22, 1999.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Pharmacognosy and pharmacobiotechnology**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1996. p. 56-57.

ROBBERS, J. E.; SPEEDIE, M. K.; TYLER, V. E. **Farmacognosia e Farmacobioteconologia**. São Paulo: Editorial Premier, 1997. p. 9, 62-64.

ROBINSON, J. R.; LEE, V. H. L. **Controlled drug delivery**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, p. 716 , 1987.

SAKSENA, A. K. Effect of *Withania somnifera* and *Panax ginseng* on dopaminergic receptors in rat brain during stress. **Planta med.**, v.55, p. 95, 1989.

SANTOS, R. I.; SANTOS, M. A.; SCHENKEL, E. P. Análise Cromatográfica de amostras comercializadas como *Panax ginseng* e *Pfaffia Paniculata*. **Cad. Farm.**, v. 3, n. 1/2, p. 59-65, 1987.

SAVEL, J. TOXICOLOGICAL REPORT ON GERIATRIC PHARMATON. P.1-31, 1971.

SCHWARTZ, J. B.; FLAMHOLZ, J. R.; PRESS, R. H. Computer optimization of pharmaceutical formulations. I: general procedure. **J. Pharma. Sci.**, Washington, v. 62, n. 7, p. 1165-1170, 1973.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**. 4 Ed. Stamford: Appleton & Lange, p. 768, 1999.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. **Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics**. 3. ed. Connecticut: Prentice-Hall, p. 625, 1993

SHEEN, P.; SABOL, P.I. ALCOM, G.I.; FULD, K.M. Aqueous film coating studies of sustained release nicotinic acid pellets: na in vitro evaluation. **Drug Dev. Ind. Pharma.**, New York, v. 18, n. 8, p. 851-860, 1992.

SHEESKEY, P. J.; ROBB, R.T.; MOORE, R.D.; BOYCE, B.M. Effects of lubricant level method of mixing, and duration of mixing on a controlled-release matrix tablet containing hydroxypropil methycellulose. **Drug Dev. Ind. Pharma.** New York, v. 21, n. 9, p. 2151-2165, 1995.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta no medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, p. 612-615, 1999.

SINGH, V.K. Combined treatment of mice with *Panax ginseng* extract and interferon inducer. **Planta Med.**, v. 47, p.235-236, 1983.

SINGH, V.K.; GEORGE, C.X.; SINGH, N.;AGARWAL, S.S.; GUPTA, B.M. Immunomodulatory activity of *Panax ginseng* extract. **Planta Med.**, v. 50, p. 462-465, 1984.

SKOUG, J. W. Strategy for the development and validations of dissolution of dissolutions tests for solid oral dosage forms. **Pharm. Tech.**, v. 20, p. 56-65, 1996.

SMART, J. D.; BARNES, M. S.; NORRIS, M. J. Na in-vitro comparison of controlled release aminophylline tablets: phyllocontin continus and pecram. **J. Pharm. Pharmacol.**, London, v. 23, p. 536-538, 1971.

STORPIRTIS, S. **Biofarmacotécnica**: fundamentos de biodisponibilidade, bioequivalência, dissolução e intercambialidade de medicamentos genéricos. São Paulo: [s.n.], p. 78, 1999.

TAKAYAMA, K.; NAMBU, N.; NAGAI, T. Factors affecting the dissolution of ketoprofen from solid dispersions in various water soluble polymers. **Chem. Pharm. Bull.**, Tokyo, v 30, n. 8, p. 3013-3016, 1982.

THE UNITED States Pharmacopeia. 24. ed. Rockville: United State Pharmacopeial Convention. 1999. 2569 p.

TRABUCCHI E. **Toxicological report on Geriatric Pharmaton. Manufacturer's data on file**. p. 1-31, 1971.

TSANG, D.; YEUNG, H.W.; TSO, W.W.; PECK, H. Ginseng saponins: Influence on neurotransmitter uptake in rat brain synaptosomes. **Planta Med.**, v. 51, p. 221-224, 1985

TYLER, V. E.; BRADY, L. R.; ROBBERS, J. E. **Pharmacognosy**. 9.ed. Philadelphia: Lea & Febiger., p. 7-23, 465, 471-475, 1988.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry. Immediate release solid oral dosage forms. **Scale up and postapproval changes: chemistry, manufacturing, and controls, in vitro dissolution testing, and in vivo bioequivalence documentation**. Rockville: CMC, p. 26, 1995.

UNITED STATES. National Archives and Records Service. Office of the Federal Register. Code of Federal Regulations. Title 21: **Food and Drug Administration**. Part 320. Bioavailability and bioequivalence requirements. 1998. Disponível em: <http://www.access.gpo.gov/nara/cfr/waisidx/21cfr320.html>

VALLE, L. B. S.; DELUCIA, R.; OLIVEIRA FILHO, R. M.; OGA, S. **Farmacologia integrada**. Rio de Janeiro: Atheneu. v. 1: Farmacologia básica., 1988.

WAGNER, H.; BLADT, Sabine. **Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas**. 2.ed. Munich: Springer, p.307-319, 1996.

WALL, B. P.; PARKIN, J. E.; SUNDERLAND, V. B. The effect of media and other variables on the BP solution rate test for slow lithium carbonate tablets. **J. Pharm. Pharmacol.**, London, v. 38, p. 633-637, 1986.

WAN, L. S. C.; HENG, P.W. S.; CHIA, C. G. H. Spray drying as a process for microencapsulation and the effect of different coating polymers. **Drug. Dev. Ind. Pharm.**, New York, v. 18, n 9, p. 997-1011, 1992.

WIJESEKERA, R. O. B. The medicinal plant industry. Sri Lanka: CRC Press, p.166, 2000.

WREN, R. C. Potter's new cyclopedia of botanical drugs and preparations. Revised (Williamson, E.W.; Evans, F.J.). Saffron Walden: Daniel, 1988.

YAMASAKI K.; YOKOYAMA, H.; MIYANO, K.; NUMOURA, Y.; HIGASHIHARA, M.; KITAHATA, S.; YONEDA, K.; UMEZAWA, C.. Purification and characterization of β -amylase from ginseng. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 37, p. 973-978, 1989.

ZUIN, M.; LEE, F.C.; KO I.H.; PARK, J.K.; LEE, I.S. Effects of *Panax ginseng* on blood alcohol clearance in man. **Clin. Exp. Pharmac. Physiol.**, v. 14, p.543-546, 1987.

ANEXOS

ANEXO 1 - CERTIFICADO DE ANÁLISE DO EXTRATO SECO

FORNECIDO POR: FINZELBERG

DATA: 22 DE FEVEREIRO DE 2001



Finzelberg

Certificate of Analysis

Product	:	Ginseng Root Powdered Extract (27 – 30 % Ginsenosides)
Item-N°.	:	0 146 351
Batch-N°.	:	01 12 0499
		Expiry date: 02/2003

Quality data		Specification	Results
1.	Appearance / Odor	Beige to ochreous extract with characteristic odor	Complies
2.	Mesh size	Not less than 95 % thru 50 mesh	Complies
3.	Bulk density (g/l)		440
4.	Identification - by TLC - Method	Complies to standard Corresponding to DAB 1999	Complies
5.	Purity tests		
	5.1 Residual solvent (by GC)	Less than 0.5 % ethanol	0.008
	5.2 Determination of water - Method	Not more than 5 % Karl Fischer	4.6
	5.3 Microbiological Purity	<ul style="list-style-type: none"> • Aerobic Bacteria : Not more than 5000 cfu/g (Total plate-count) • Molds and Yeasts : Not more than 100 cfu/g (Total plate count) • Enterobacteria and other : Not more than 100 cfu/g certain gram-negativ bacteria • Pseudomonas : None detected in 1 g aeruginosa Presence • Staphylococcus aureus : None detected in 1 g Presence • Escherichia coli : None detected in 1 g Presence • Salmonella : None detected in 10 g Presence 	2500 - 2000 < 10 < 100 Complies Complies Complies Complies



Finzelberg

Certificate of Analysis

Product	:	Ginseng Root Powdered Extract (27 – 30 % Ginsenosides)
Item-N°	:	0 146 351
Batch-N°	:	01 12 0499

Expiry date: 02/2003

Quality data	Specification	Results
6. - Residue of pesticides in the extract before preservation		Complies
- Sum of Quintozene in the extract preparation	Not more than 10 ppb	Complies
- Sum of Hexachloro-cyclohexane isomers in the extract preparation	Not more than 10 ppb	Complies
7. Assay		
a) photometric	a) 27.0 – 30.0 % Ginsenosides	27.3
b) HPLC	b) Not less than 7.0 % Ginsenosides, related to primary standard Rg 1 and Rb 1	12.5
- Method	Finzelberg	

Head of Manufacture

Head of Quality Control

Dr. Roth-Ehrang

Dr. V. Friese

Andernach, February 22, 2001 · Dr.Fr./ma

L:\QK\QK7\AZ's in Bearbeitung\01120499.doc

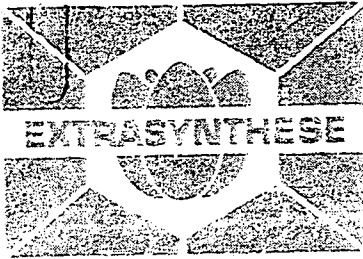
This is a computer printout and therefore valid without signature. The signed original is in our files.

Finzelberg GmbH & Co. KG
 Kopfstr. 48
 D-55628 Andernach
 - Export -

ANEXO 2 – CERTIFICADOS DE ANÁLISE DOS PADRÕES DE
GINSENOSÍDEOS
FORNECIDO POR: EXTRASYNTHESE
TÉCNICA: CLAE

EXTRASYNTHÈSE

B.P. 81 - 88728 GENAY CEDEX - FRANCE Tel. 78 88 20 04 - Telex 78 88 18 48



H P L C

0103 S

GINSENOSIDE RE

Batch :
09

Column : Nova pak C 18 @ rad pak (10 cm x 8 mm), particle size 4 µm

Solvent : Acetonitrile / Water (25/75 , V/V)

Flow rate : 1.5 ml/min

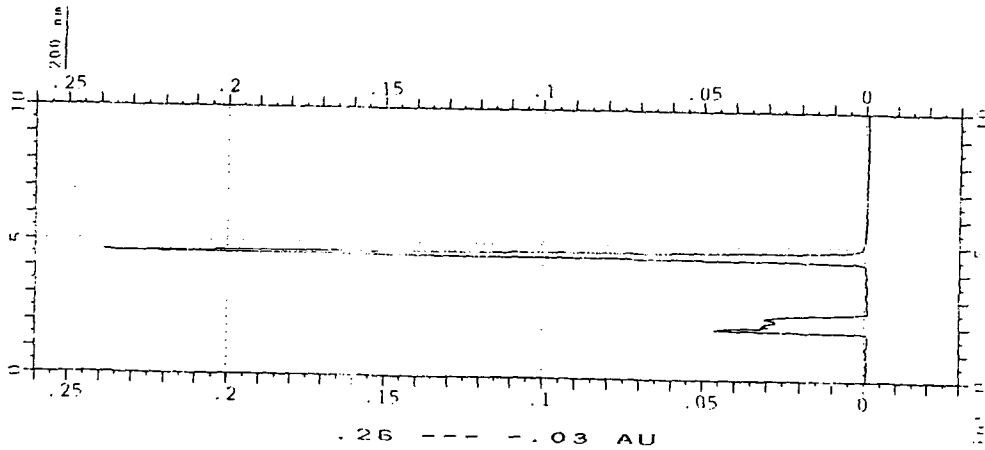
Detector : UV Visible 200 nm

Capacity factor : $k' = 1.36$

Column temperature : Room temperature

Sample solvent : Ethanol

Observations : To be kept in a desiccator
It damage with acid



Report File re642.DT3

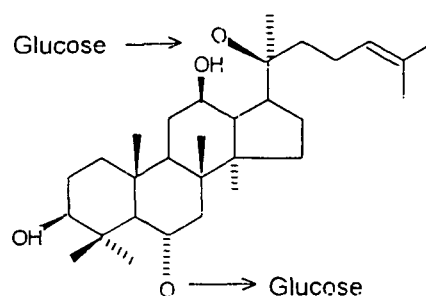
200 nm

No. Mark	Retention time	Height [AU]	Left time	Right time	Area [AU*min]	Area [%]
1	4.59	9.2382	4.31	5.23	0.043735	100.000

GINSENOSE RG1

Référence 0101 S

Batch 26


IDENTIFICATION

Cas number	[22427-39-0]
Chemical family	Saponins
Chemical names	D-Glucopyrannosyl-6β D-Glucopyrannosyl-20S protapanaxatriol
Molecular formula	C ₄₂ H ₇₂₆ O ₁₄
Molecular weight	801.022

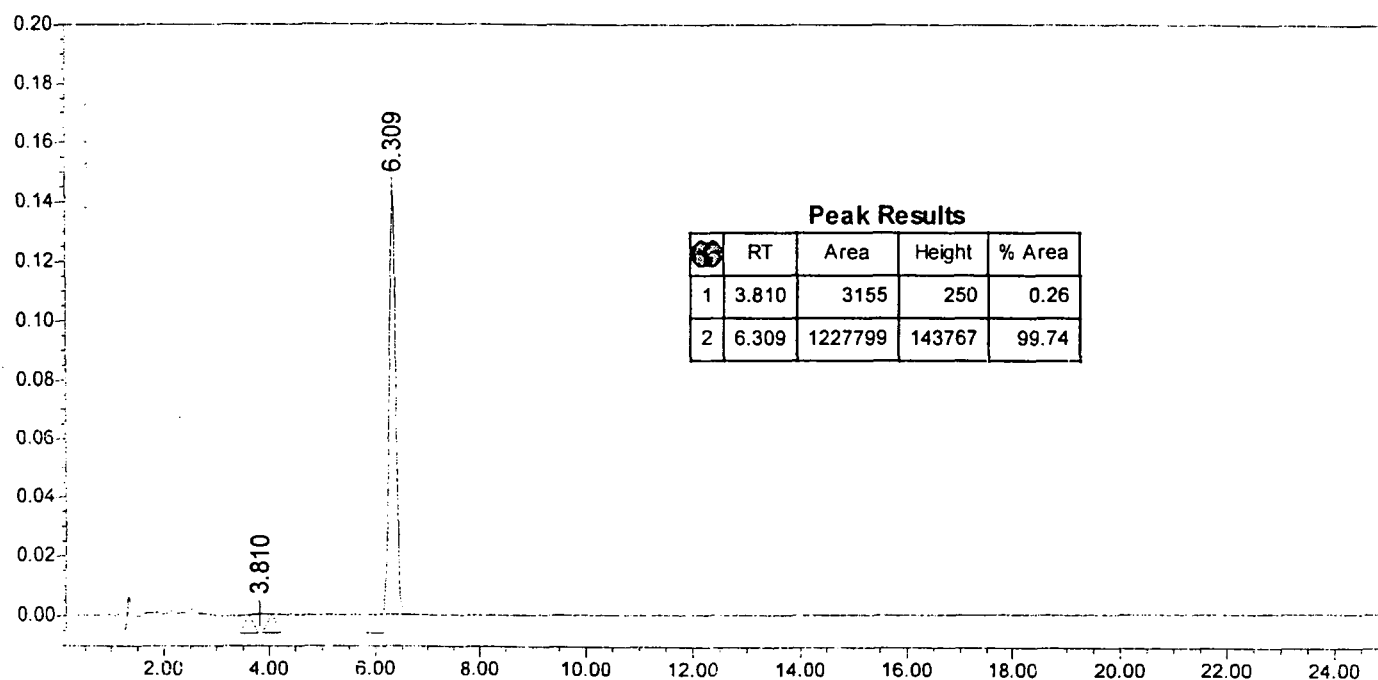
CERTIFICATE OF ANALYSIS

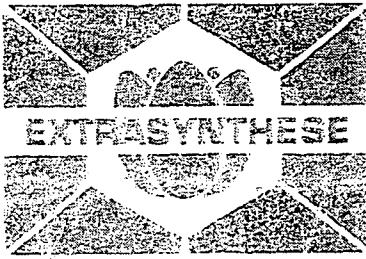
Appearance	White powder	
Thin layer chromatography	support	Silicagel
	solvent	Ethylacetate/methanol/water (100/25/10:V/V/V)
	detection	p-Anisaldehyde/acetic acid/sulfuric acid (1/40/1.V/V/V) then heating 10 mn at 110°C

Storage store at room temperature in a dry and dark place.

HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Column	Symmetry Shield RP18® (4.6 x 150 mm), particle size 3.5 µm
Solvent	Water / Acetonitrile (76/24 , V/V)
Flow rate	1ml/mn
Detector	UV visible 200 nm
Capacity factor	2.5
Sample solvent	Mobile phase





EXTRASYNTHÈSE

BP 82 - ROUTE DE SENAY CEDEX - FRANCE - T 78 99 20 34 - Telex 7893 18 45

HP LC 0105 S

GINSENOSIDE RB1 Batch : 21 *quipo*

Column : Symmetry Shield RP18 ® (4.6 x 150 mm), particle size 3.5 µm

Solvent : Acetonitrile / Water (32/68 , V/V)

Flow rate : 1 ml/min

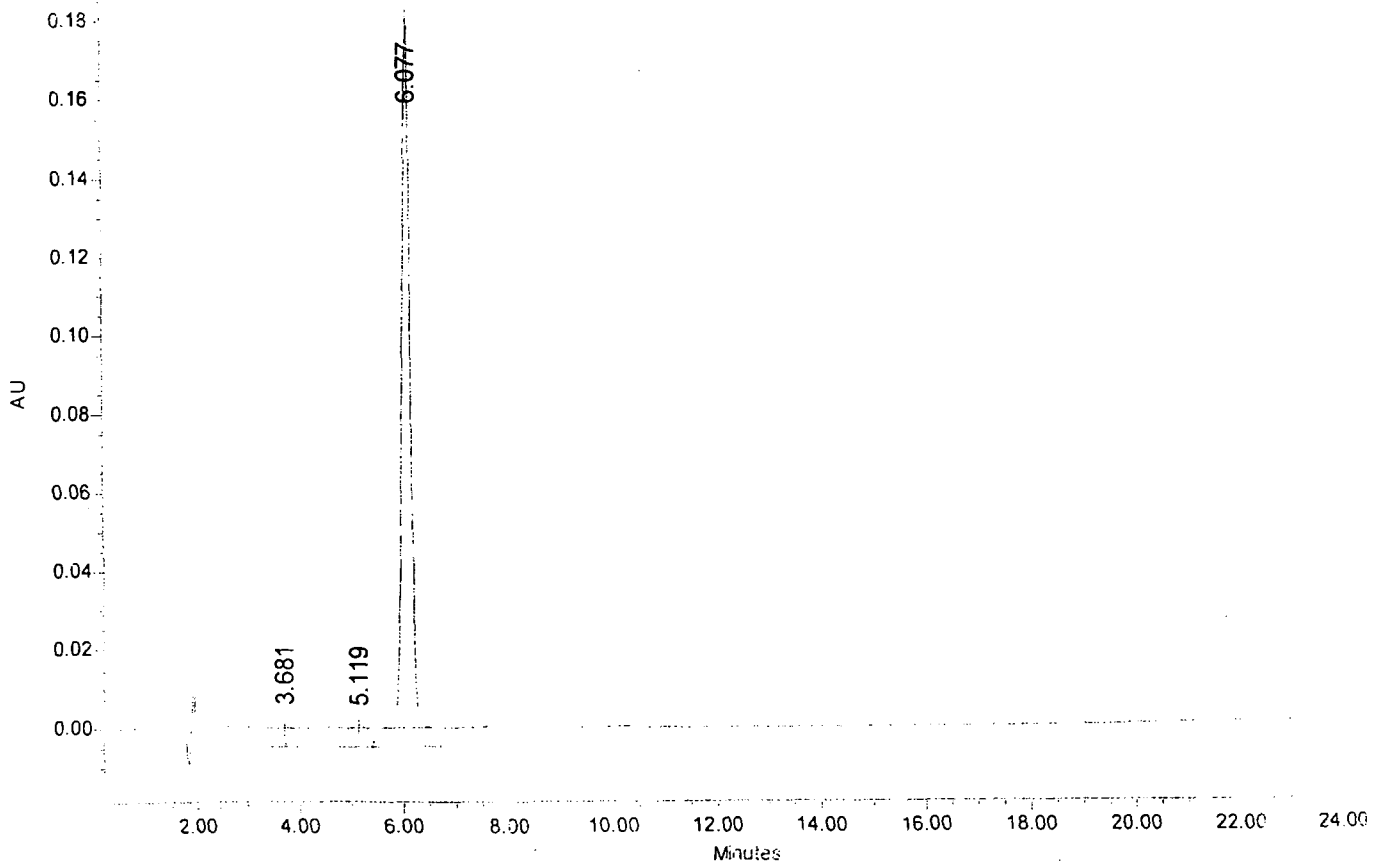
Detector : UV Visible 200 nm

Capacity factor : k' = 2.57

Column temperature : 35°C

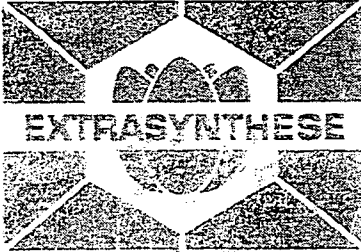
Sample solvent : Water

Observations : To be kept in a desiccator
It damage with acid



Peak Results

RT	Area	Height	% Area
1 3.681	5786	1124	0.30
2 5.119	7187	816	0.37
3 6.077	1924587	180265	99.33



EXTRASYNTHÈSE

B.P. 661 - 66128 GENAY CEDEX - FRANCE - T. 78 98 00 34 - Telex 78 98 19 45

H P L C 0104 S

GINSENOSIDE RB2 Batch : **17**

Column : Symmetry Shield RP18 ® (4.6 x 150 mm), particle size 3.5 µm

Solvent : Water / Acetonitrile (68/32 , V/V)

Flow rate : 1 ml/mn

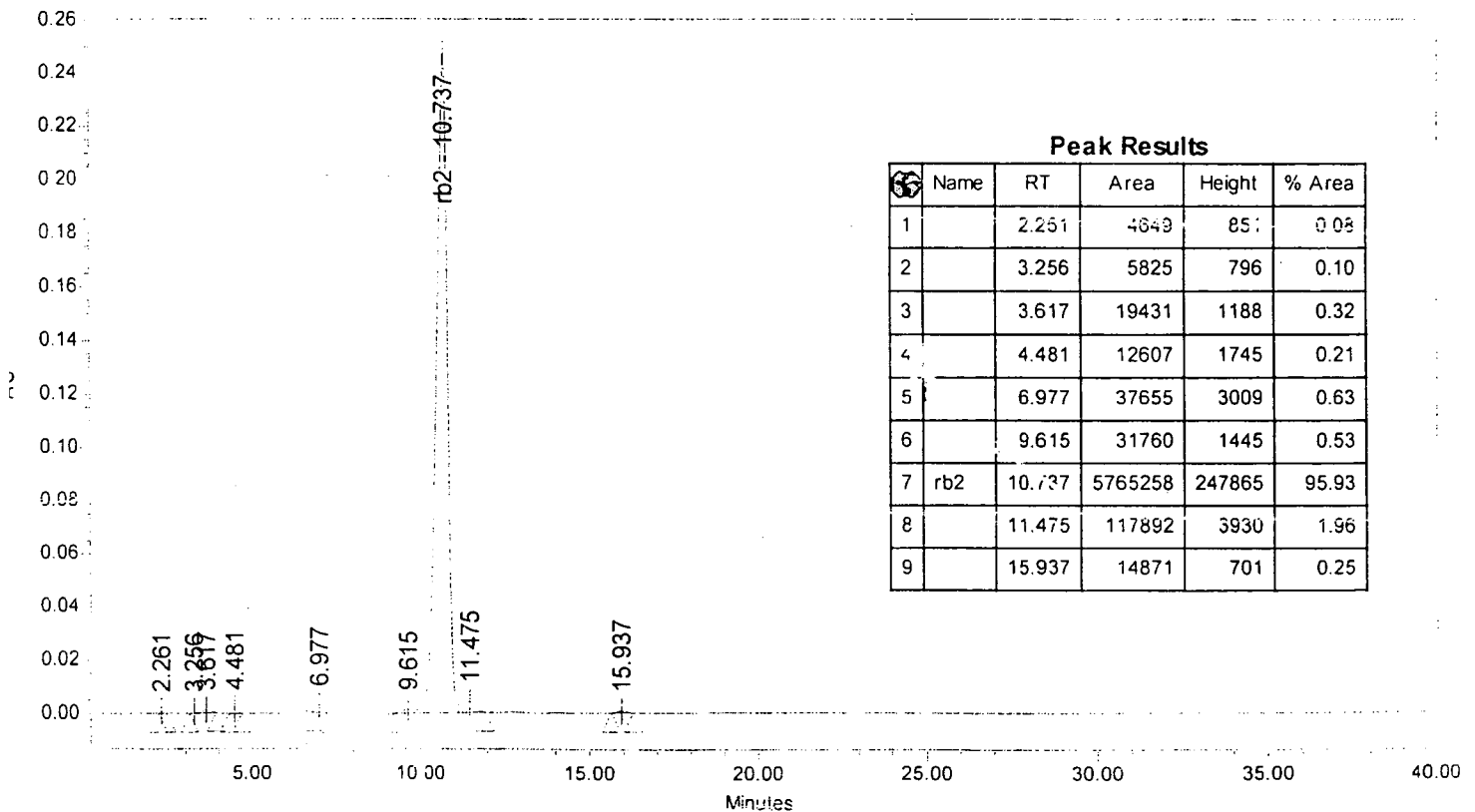
Detector : UV Visible 200nm

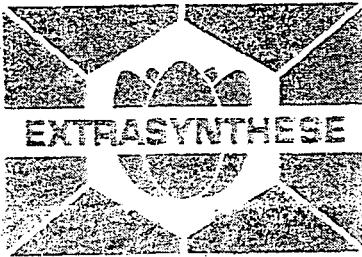
Capacity factor : k' =5.11

Column temperature :

Sample solvent : Mobile phase

Observations :
To be kept in a desiccator
It damage with acid
Unstable in solution





EXTRASYNTHÈSE

S.P. 82 - 88708 GENAY CEDEX - FRANCE - Tél. 78 86 20 34 - Telefax 78 83 73 46

H P L C **0106 S**

GINSENOSIDE RC **Batch : 14**

Column : Symmetry Shield RP18 ® (4.6 x 150 mm), particle size 3.5 µm

Solvent : Water / Acetonitrile (68/32 , V/V)

Flow rate : 1 ml/min

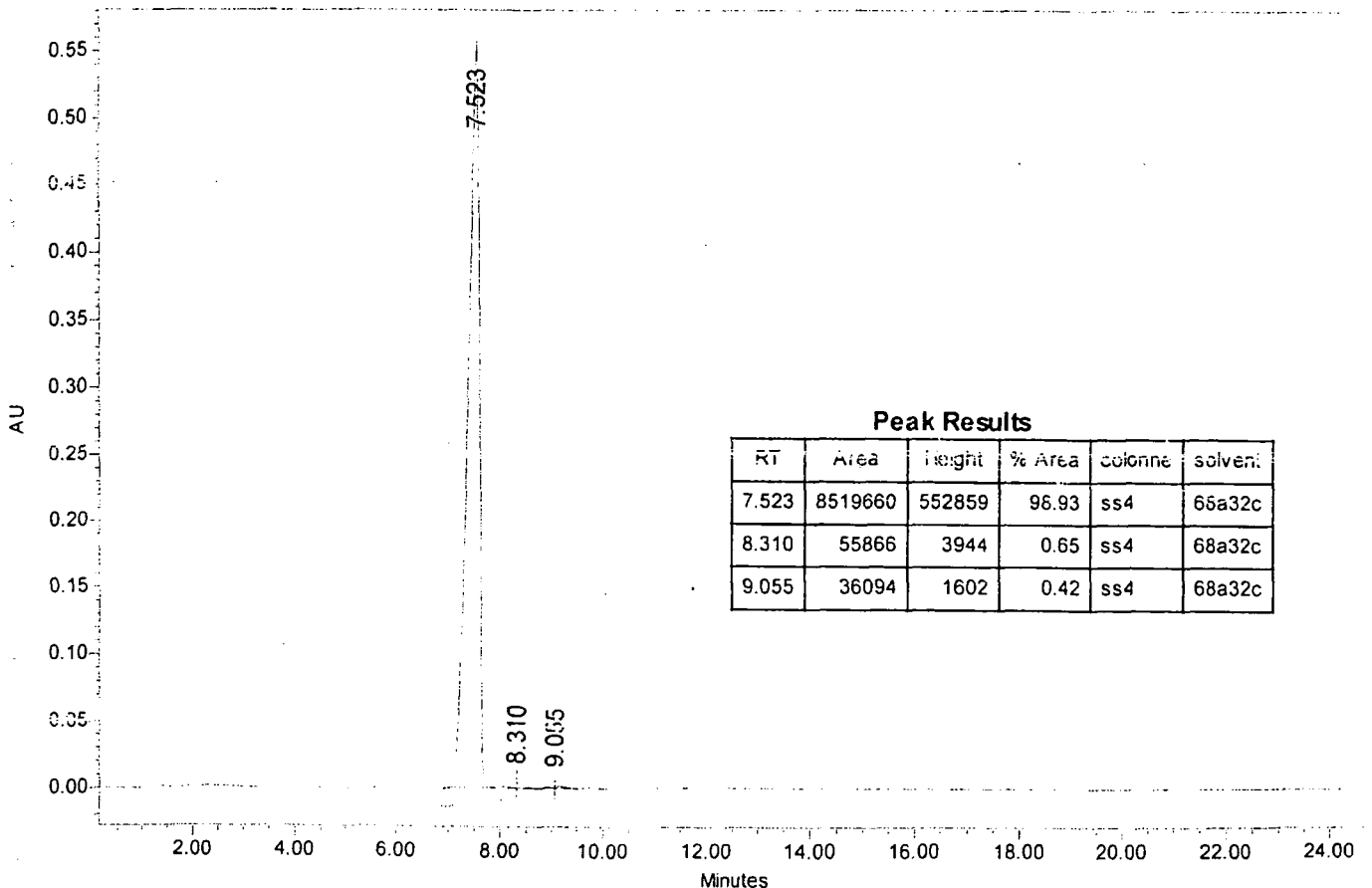
Detector : UV Visible 200nm

Distribution factor : $k' = 3.41$

Column temperature :

Sample solvent : Mobile phase

Observations :
It damage in solution
To be kept in desiccator





EXTRASYNTHÈSE

B.P. 80 - 86728 GENAY CEDEX - FRANCE - Tél. 78 98 00 34 - Telex 78 98 13 48

H P L C 0102 S

GINSENOSIDE RD Batch : 10

Column : Symmetry Shield RP18 ® (4.6 x 150 mm), particle size 3.5 µm

Solvent : Water / Acetonitrile (62/38 , V/V)

Flow rate : 1 ml/mn

Detector : UV Visible 200 nm

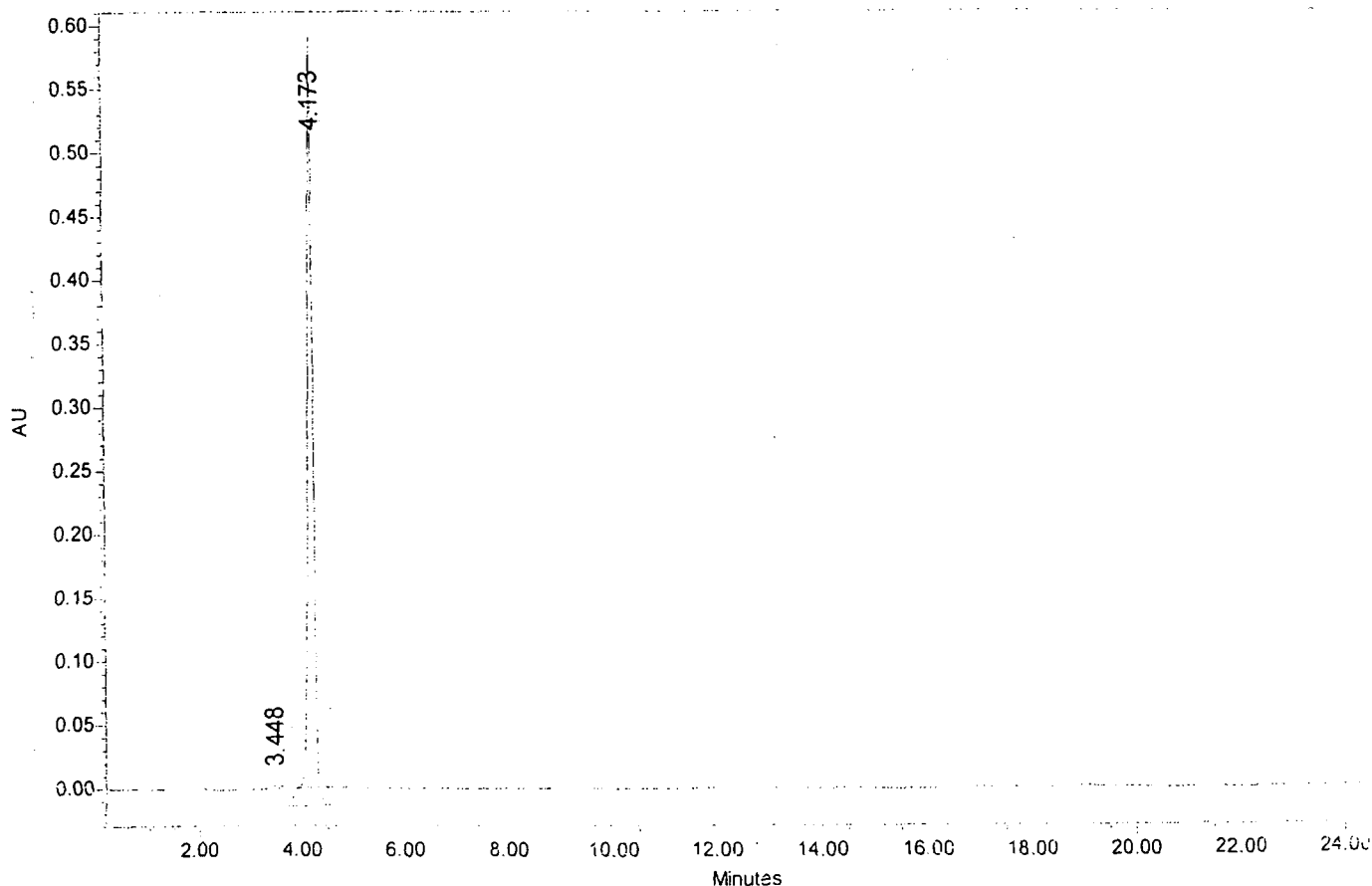
Capacity factor : k' =1.33

Column temperature :

Sample solvent : Ethanol 95°

Observations :

To be kept in a desiccator
It damage with acid
Unstable in solution



Peak Results

RT	Area	Height	% Area	colonne	solvent
1 3.448	40141	3008	0.97	ss4	62a38c
2 4.173	4097377	577947	99.03	ss4	62a38c