

**Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia**

**ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS FITOTERÁPICOS DE *Justicia pectoralis*, PRODUZIDOS NA FARMÁCIA DA NATUREZA**

**HELLEN VANESSA DA SILVA**

**Ribeirão Preto**

**2023**

Hellen V. da Silva

**ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS FITOTERÁPICOS DE *Justicia*  
*pectoralis*, PRODUZIDOS NA FARMÁCIA DA NATUREZA**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, área de concentração: Controle de Qualidade de Fitoterápicos.

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Helena Taleb Contini  
Coorientadora: Profa. Dra. Ana Maria Soares Pereira

**RIBEIRÃO PRETO**

**2023**

Ficha catalográfica preparada pelo Centro de Processamento  
Técnico da Biblioteca Central da UNAERP

- Universidade de Ribeirão Preto -

SILVA, Hellen Vanessa da, 1984-

S586e Estudo de estabilidade dos fitoterápicos de *Justicia pectoralis*, produzidos na  
farmácia da natureza / Hellen Vanessa da Silva. – Ribeirão Preto, 2024.

38 f. : il. color.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Sílvia Helena Taleb Contini.

Dissertação (Mestrado) - Universidade de Ribeirão Preto, UNAERP,  
Mestrado em Biotecnologia, 2024.

1. Medicamentos fitoterápicos. 2. Cromatografia. 3. Cumarínicos. II. Título.

CDD 660

**ESTUDO DE ESTABILIDADE DOS FITOTERÁPICOS DE *Justicia pectoralis*,  
PRODUZIDOS NA FARMÁCIA DA NATUREZA**


Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade de Ribeirão Preto, para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Área de Concentração: Biotecnologia Aplicada à Saúde


Data da defesa: 12 de dezembro de 2023

Resultado: Aprovada


**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **SILVIA HELENA TALEB CONTINI**  
Data: 23/01/2024 10:37:34-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profa. Dra. Silvia Helena Taleb Contini**  
**Presidente/UNAERP**

Documento assinado digitalmente  
 **LUCAS JUNQUEIRA DE FREITAS MOREL**  
Data: 12/12/2023 18:51:54-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Prof. Dr. Lucas Junqueira de Freitas**  
**Morel UnB**

Documento assinado digitalmente  
 **JULIANA DA SILVA COPPEDE**  
Data: 12/12/2023 14:59:41-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Profa. Dra. Juliana da Silva Coppede**  
**UNAERP**

**RIBEIRÃO PRETO**  
**2023**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Deus, por ter proporcionado todas as condições necessárias para a conclusão deste trabalho.

Agradeço à minha família, que é minha base e fortaleza em todos os momentos da minha vida, em especial aos meus pais e esposo, por me apoiarem e compreenderem a importância de deixar de passar tempo na companhia deles para a concretização de mais um sonho.

Agradeço a todos do Laboratório de Biotecnologia da Unaerp, que em diversos momentos me auxiliaram no desenvolvimento da pesquisa, em especial à Prof<sup>a</sup>. Silvia Contini e Prof<sup>a</sup>. Ana Maria Pereira que me orientaram, e acompanharam minha jornada em diversas oportunidades.

Agradeço à banca examinadora pelo privilégio de ser avaliada por um núcleo de professores comprometidos com o ensino e pesquisa da Biotecnologia no país, pois nesta etapa tão importante sempre quis ter a oportunidade de convidar profissionais que com seus ensinamentos não só a nível acadêmico, foram exemplo de profissionalismo e humanidade durante o curso.

Agradeço em especial à professora Juliana Coppede, que colaborou com muita sabedoria durante o desenvolvimento deste trabalho e me ensinou muitas coisas, que seriam impossíveis de enumerar em uma frase. Minha eterna gratidão por todo o aprendizado.

## RESUMO

O controle de qualidade físico-químico e microbiológico de fitoterápicos é um fator fundamental, para garantir sua qualidade e segurança ao paciente. A Organização Mundial de Saúde, vem enfatizando os aspectos culturais e tradicionais envolvidos no uso de plantas medicinais e a relação com a atenção básica em saúde coletiva. *Justicia pectoralis* (chambá) tem sido citada em diversas pesquisas como efetiva planta medicinal e está na relação de plantas medicinais utilizadas pelo SUS. O trabalho tem como objetivo analisar a vida de prateleira e a estabilidade da substância cumarina, presentes na tintura e no xarope fitoterápico produzido a partir da planta *J. pectoralis*, visando conhecer o período no qual o uso do medicamento se torna seguro e efetivo, sem que haja degradação físico-química do produto e dos ativos. Amostras de tintura e xarope de *J. pectoralis* foram armazenadas em temperaturas de 30°C (ao abrigo da luz e expostas à luz) e 40°C (ao abrigo da luz) e submetidas à análises físico-químicas, cromatográficas e microbiológicas durante o período de um ano. A cromatografia em camada delgada e a cromatografia líquida de alta eficiência-UV, foram utilizadas para monitorar a estabilidade do marcador químico cumarina. Ao final do experimento foi determinado o período de tempo no qual os marcadores químicos e o produto fitoterápico permanecem adequados ao uso pelo paciente.

**Palavras-chave:** Chambá. Controle de qualidade. Cromatografia em camada delgada comparativa. Cumarina. Farmácia Viva.

## ABSTRACT

The physical-chemical and microbiological quality control of herbal medicines is a fundamental factor to guarantee their quality and safety for the patient. The World Health Organization has been emphasizing the cultural and traditional aspects involved in the use of medicinal plants and the relationship with basic public health care. *Justicia pectoralis* (chambá) has been cited in several studies as an effective medicinal plant and is on the list of medicinal plants used by the SUS. The aim of the work is to analyze the shelf life and stability of the coumarin substance, present in the herbal tincture and syrup produced from the *J. pectoralis* plant, aiming to know the period in which the use of the medicine becomes safe and effective, without there is physical-chemical degradation of the product and active ingredients. Samples of *J. pectoralis* tincture and syrup were stored at temperatures of 30°C (protected from light and exposed to light) and 40°C (protected from light) and subjected to physicochemical, chromatographic and microbiological analyzes over a period of one year. Thin layer chromatography and high performance liquid chromatography-UV were used to monitor the stability of the chemical marker coumarin. At the end of the experiment, the period of time in which the chemical markers and the herbal product remained suitable for use by the patient was determined.

**Key words:** *Justicia pectoralis*. Live Pharmacy. Quality control. Thin layer comparative chromatography. Coumarin.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>05</b>
1.1 JUSTIFICATIVA .....	07
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>08</b>
2.1 <i>JUSTICIA PECTORALIS</i> DC. (CHAMBÁ) .....	08
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA .....	09
2.3 FARMACOLOGIA E ATIVIDADE BIOLÓGICA.....	09
2.4 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS .....	10
2.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE .....	11
<b>3 OBJETIVOS .....</b>	<b>13</b>
3.1 OBJETIVO GERAL .....	13
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	13
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>14</b>
4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE <i>JUSTICIA PECTORALIS</i> .....	14
4.1.1 ALCOOL DE CEREAIS 70 °GL .....	14
4.1.2 Tintura de <i>Justicia pectoralis</i> .....	14
4.1.3 Xarope Fitoterápico de <i>Justicia pectoralis</i> .....	15
<b>4.1.3.1 Xarope base .....</b>	<b>15</b>
<b>4.1.3.2 Xarope fitoterápico.....</b>	<b>16</b>
4.2 ESTUDO DE ESTABILIDADE DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE <i>J. pectoralis</i> .....	16
4.2.1 Avaliação dos Parâmetros Físico-químicos.....	17
<b>4.2.1.1 Determinação da Densidade.....</b>	<b>17</b>
<b>4.2.1.2 Determinação do pH .....</b>	<b>18</b>
<b>4.2.1.3 Determinação do teor alcóolico .....</b>	<b>18</b>

<b>4.2.1.4 Determinação do volume .....</b>	<b>18</b>
4.2.2 Análise Microbiológica .....	19
4.2.2.1 Preparo dos meios de cultura .....	19
<b>4.2.2.2 Contagem do número total de microrganismos mesofílicos .....</b>	<b>19</b>
<b>4.2.2.3 Pesquisa de microrganismos patogênicos: Bactérias Gram-negativas bile tolerantes.....</b>	<b>20</b>
4.3 ESTUDO DE FOTOESTABILIDADE DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE <i>J. pectoralis</i> .....	21
4.4 MONITORAMENTO DO MARCADOR QUÍMICO CUMARINA DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE <i>J. pectoralis</i> POR MEIO DE CCDC E HPLC.....	21
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>24</b>
5.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE TINTURA .....	24
5.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE XAROPE.....	29
5.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA .....	34
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>36</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>37</b>

## INTRODUÇÃO

O emprego de plantas medicinais na recuperação da saúde tem evoluído ao longo dos tempos, desde as formas mais simples de tratamento tópico até as formas tecnologicamente sofisticadas da fabricação industrial (LORENZI; MATOS, 2008). As plantas possuem em suas flores, folhas e raízes, grande diversidade de compostos químicos com propriedades capazes de prover, além da nutrição básica, outros benefícios à saúde, tais como a prevenção e o tratamento de doenças. Devido às propriedades medicinais e ao crescente interesse da população no consumo de produtos medicinais, alimentos e cosméticos derivados de fontes naturais, houve uma intensificação no número de pesquisas no sentido de obter produtos derivados de plantas, que possam ter suas propriedades potencializadas, e também a busca de alternativas para ampliar a produção (VEGGI, 2009).

A pesquisa de fatores de proteção sustentáveis, alternativos, utilizando recursos naturais renováveis como plantas com atividade medicinal, condimentar ou aromática tem sido priorizado pela Organização Mundial de Saúde, enfatizando os aspectos culturais e tradicionais envolvidos e a relação com a atenção básica em saúde coletiva. *Justicia pectoralis* (chambá) tem sido citada em diversas pesquisas como efetiva planta medicinal.

*Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard, Acanthaceae, é uma erva sub-ereta cultivada no nordeste do Brasil, popularmente conhecida como "chambá", "anador" e "trevo-cumarú", suas partes aéreas são utilizadas na forma de preparações artesanais ou em formulações farmacêuticas na forma de xarope, sendo indicada para o tratamento de doenças respiratórias, como tosse, bronquite e asma (Fonseca *et al.*, 2010).

A qualidade de um medicamento fitoterápico é determinada pela qualidade da droga vegetal, do produto intermediário e do produto final, levando-se em consideração os requisitos de boas práticas na fabricação de produtos farmacêuticos de origem vegetal que devem ser seguidos rigorosamente no preparo do medicamento. O controle de qualidade desses produtos emprega um conjunto de métodos, sendo eles, farmacognósticos, controle físico-químico e monitoramento microbiológico, portanto, diversos métodos analíticos têm sido empregados na análise

de marcadores químicos, incluindo cromatografia em camada delgada, cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) e cromatografia gasosa (Fonseca *et al.*, 2010).

Atualmente, a RDC nº 318, de 2019, estabelece os critérios para a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos. O Guia nº 218/2019 elaborado pela ANVISA, complementa esta RDC, servindo de orientação para a realização dos estudos.

Os estudos de estabilidade acelerado ou de longo prazo, tem como finalidade estabelecer como a qualidade de um IFA (Ingrediente/ Insumo farmacêutico ativo) ou medicamento varia ao longo do tempo, quando exposto à influência de diversos fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz. O estudo de estabilidade acelerado tem como objetivo selecionar as formulações e embalagens adequadas para garantir a estabilidade do produto. Os dados obtidos no estudo acelerado, juntamente com aqueles obtidos dos estudos de longa duração, auxiliam na determinação do prazo de validade e das condições apropriadas de estocagem e transporte do medicamento analisado (ANVISA, 2019).

Segundo Bansal *et al.* (2016), o protocolo ideal de estudo de estabilidade de fitoterápicos, deve incluir, além da avaliação físico-química do produto, a avaliação da substância de interesse terapêutico com relação à quantidade estabelecida cientificamente para a efetiva atividade durante a vida de prateleira do produto.

## 1.1 JUSTIFICATIVA

Há escassez de estudos de estabilidade de fitoterápicos que avaliam a estabilidade do marcador químico de interesse terapêutico, sendo assim, a identificação, a padronização dos constituintes químicos presentes no xarope fitoterápico e o estabelecimento do período no qual estes marcadores químicos de interesse terapêutico estão estáveis nesta forma farmacêutica produzida a partir de *J. pectoralis* é de extrema importância para o uso seguro deste medicamento.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Justicia pectoralis* DC. (CHAMBÁ)

Planta: *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard

Família: Acanthaceae

Nomes populares: anador, trevo cumaru e chambá

Botânica: É uma erva perene, mede aproximadamente 30 cm de comprimento, possui caule verde em formato subcilíndrico a subquadrangular, que apresenta tricomas retrorsos e esbranquiçados dispostos em linhas verticais. Sua raiz é fasciculada, pode estar presente também em gemas inferiores. Suas folhas são membranáceas e opostas, geralmente de coloração verde podendo apresentar pigmentação vinácea, com formato estreito-ovalada, a lâmina foliar adulta mede cerca de 3 cm, na qual encontram-se tricomas com 0,3 mm de comprimento em ambas as faces e um pecíolo com cerca de 5,0 mm de comprimento. A inflorescência paniculada terminal possui entre 6-15 cm de comprimento, podendo ser alternadas ou opostas, com flores séssil e axial. O cálice é puberulento de coloração verde claro. A corola pode ser de lilás a violeta personada, com 6 a 7,5 mm de comprimento, tubo reto, lábio superior ereto, triangular, com o inferior 3-lobado, externamente pubérulo. Possui dois estames parcialmente adnatos ao tubo da corola. As anteras são rimosas e o ovário é supero, oblongo, bicarpelar, bilocular, contendo dois óvulos por lóculo (Lima, 2018).

**Figura 1. *Justicia pectoralis***



Distribuição Geográfica: Ocorre naturalmente na região amazônica e cultivada.

Uso etnomédico: utilizada na Amazônia pelos índios em rituais como ingrediente e aromatizante de rapés alucinógenos (inalação), tem sido usada pela população em geral como medicação para o tratamento de reumatismo, cefaléia, febre, dores abdominais, inflamações pulmonares, tosse, também é utilizada como sudorífica, expectorante e afrodisíaca (Lorenzi; Matos, 2009).

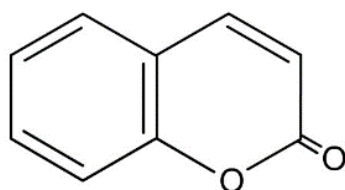
## 2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Seus principais compostos de interesse farmacológico são a cumarina e a umbeliferona (figura 2), porém possui em menor quantidade outras substâncias como: diidroxycumarina, ácido orto-hidroxitranscinâmico acetilado, beta-sitosterol, C-glicosilflavonas-O-metoxiladas eswertisina e eswertiajaponina, 2"-O-ramnosil-eswertisina e 2"-O-ramnosileswertiajaponina, betaína e a lignana Justicina B.

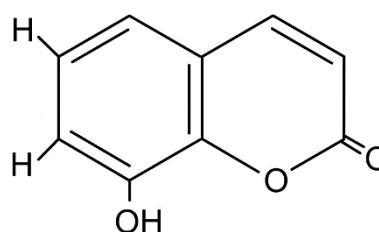
## 2.3 FARMACOLOGIA E ATIVIDADE BIOLÓGICA

Em experimentos realizados utilizando o extrato hidroalcolico da planta produzida em hortas medicinais no nordeste do Brasil, ficaram comprovadas suas ações farmacológicas antipirética, analgésica, espasmolítica, anti-inflamatória e broncodilatadora. Porém o uso medicamentoso desta planta deve ser feito evitando o uso de folhas secas malconservada, devido ao risco da ocorrência de fungos que transformam a cumarina em dicumarol, substância altamente hemorrágica, que é utilizada frequentemente em venenos para controle de ratos (Lorenzi; Matos, 2009).

**Figura 2. Marcadores químicos de *J. pectoralis*.**



**Cumarina**



**Umbeliferona**

Fonte: <https://www.plantasyhongos.es/glosario/cumarinas.htm>

## 2.4 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS

No sentido de localizar os princípios ativos, todos os extratos semi-puros devem ser testados e aquele que apresentar efeito biológico de interesse, deverá ser submetido aos procedimentos cromatográficos para o isolamento e a purificação dos compostos. Recomenda-se sempre utilizar grandes quantidades de planta, pois este fato possibilita determinar também os constituintes presentes em baixas concentrações (Cechinel Filho; Yunes, 1998).

A cromatografia em camada delgada e a cromatografia líquida de alta eficiência, são técnicas cromatográficas amplamente utilizadas na identificação e na determinação do teor de metabólitos secundários e marcadores químicos de plantas medicinais no processo de controle de qualidade.

A cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica de adsorção líquido-sólido, na qual a separação dos componentes ocorre pela diferença de afinidade dos componentes da mistura pela fase estacionária. A sílica gel é a fase estacionária mais utilizada, as placas são preparadas utilizando-se uma suspensão do adsorvente em água, que é depositada sobre a placa manualmente ou com o auxílio de um espalhador. Em seguida, deixa-se a placa secar ao ar. A ativação da placa é etapa final da preparação, a sílica, é ativada a 105-110 °C por 30 a 60 minutos. Estão disponíveis no mercado placas analíticas e preparativas pré-fabricadas, que apresentam a fase estacionária depositada sobre uma lâmina de material plástico ou de alumínio, sendo estas de maior eficiência (Degani; Vieira, 1998).

Após a aplicação da(s) amostra(s) sobre a placa, a mesma deve ser introduzida numa cuba contendo a fase móvel adequada, visando obter melhores resultados, geralmente utilizam-se misturas de solventes como fase móvel, proporcionando uma polaridade média em relação à polaridade dos componentes da amostra. A placa permanece na cuba até que o solvente por capilaridade, suba até aproximadamente 2 cm da extremidade superior, o solvente irá arrastar consigo os compostos menos adsorvidos na fase estacionária, separando-os dos mais adsorvidos (Degani; Vieira, 1998).

A linha de chegada da fase móvel deve ser marcada e a placa deve estar seca. Devido ao fato de a maioria dos compostos orgânicos ser incolor, faz-se necessária a utilização de um processo de revelação para que se possa analisar o resultado obtido ao final do processo (Degani; Vieira, 1998).

A Cromatografia líquida de alta eficiência ou *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) é uma técnica utilizada na separação de vários componentes de uma mistura de substâncias ou de uma solução, com o objetivo de identificar, quantificar ou purificar os componentes de uma solução. Nesta técnica, um pequeno volume de uma amostra líquida é colocado em uma coluna cromatográfica com partículas porosas (fase estacionária), e um reagente é dispensado na coluna (fase móvel), fazendo com que os componentes da mistura se desloquem através da coluna. As substâncias com maior afinidade pelo reagente (fase móvel), movem-se mais rapidamente; enquanto as substâncias com menor afinidade movem-se mais lentamente. Ao sair da coluna, os componentes passam por um detector que emite um sinal elétrico o qual é registrado, dando origem a um cromatograma (Argenton, 2010).

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) tem a capacidade de realizar separações e análises quantitativas de uma grande quantidade de compostos presentes em vários tipos de amostra, com alta resolução, eficiência e sensibilidade. É utilizada em análises de compostos não voláteis ou instáveis termicamente onde a cromatografia gasosa não pode ser utilizada, possui um campo de aplicação extremamente vasto, devido ao fato de cerca de 80 % dos compostos utilizados na indústria farmacêutica apresentarem essas características, possibilitando a quantificação dos insumos farmacêuticos e medicamentos, bem como o doseamento de impurezas e produtos de degradação em matérias-primas e produtos acabados.

## 2.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE

Visando um maior controle e segurança no uso de medicamentos fitoterápicos, o estudo de estabilidade é uma importante ferramenta para o setor farmacêutico, pois determina o período em que um determinado medicamento fitoterápico preserva a presença do ativo de interesse farmacológico, e a efetividade do conservante utilizado. A RDC nº318 de 6/11/2019 estabelece os critérios para a realização de estudos de estabilidade.

Os estudos são realizados em duas etapas, o estudo de estabilidade acelerado e o estudo de estabilidade de longo prazo, as condições de armazenamento que constam no anexo II da RDC nº318 de 6/11/2019 devem ser seguidas para ambos os estudos.

O estudo de estabilidade acelerado é realizado durante 6 meses, as amostras dos medicamentos devem ser acondicionadas em estufa de temperatura de 40 °C e umidade entre 5-25 %, as análises devem ser realizadas no tempo inicial ( $T_0$ ) e após 3 e 6 meses de armazenamento. O estudo de estabilidade de longo prazo é realizado durante 12 meses, as amostras dos medicamentos devem ser acondicionadas em estufa de temperatura de 30 °C e umidade entre 5-25 %, as análises devem ser realizadas no tempo inicial ( $T_0$ ) e após 3, 6, 9 e 12 meses de armazenamento. Em ambos os estudos são avaliados aspectos físico-químicos e microbiológicos.

O estudo de fotoestabilidade, tem a finalidade de avaliar se o medicamento é sensível a exposição à luz, é realizado utilizando amostras do medicamento em embalagem transparente, completamente exposto à luz, e o acompanhamento é feito em paralelo aos demais estudos. Não havendo modificação significativa, o medicamento será considerado fotoestável em sua embalagem primária (ANVISA, 2019).

Os resultados obtidos nestas análises são compilados em um relatório final que deve ser submetido à ANVISA para que o prazo de validade de um medicamento seja estabelecido ou revalidado (ANVISA, 2019).

### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo de estabilidade da tintura e do xarope fitoterápico de *Justicia pectoralis*, produzido na Farmácia da Natureza (Farmácia Viva), localizada em Jurucê, distrito de Jardinópolis, no estado de São Paulo, por meio das técnicas de controle de qualidade físico, químico (CCDC, HPLC) e microbiológico.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudo de estabilidade acelerado e de longo prazo da tintura e do xarope de *Justicia pectoralis* produzido na Farmácia da Natureza.
- Empregar a técnica de cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC), com a finalidade de identificar a presença do metabólito secundário cumarina, na tintura e no xarope de *Justicia pectoralis* produzido pela Farmácia da Natureza.
- Empregar a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE / HPLC), com a finalidade de separar os metabólitos secundários presentes na tintura e no xarope e monitorar a presença dos metabólitos durante o teste de estabilidade.
- Determinar o período de tempo, no qual a cumarina permanece estável nas formas farmacêuticas analisadas.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 PREPARO DAS AMOSTRAS DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE *Justicia pectoralis*

As amostras de tintura e xarope fitoterápico de *J. pectoralis*, foram preparadas conforme os procedimentos descritos no formulário fitoterápico da farmácia da natureza (Pereira *et al.*, 2014) nas páginas 149 e 317.

#### 4.1.1 Álcool de Cereais 70 °GL

O álcool de cereais 70 °GL, foi preparado utilizando-se álcool de cereais 96 °GL e água destilada.

Em uma proveta foram adicionados 700 mL de álcool de cereais 96 °GL e 300 mL de água destilada. Em seguida o teor alcóolico foi medido com o auxílio de um alcoômetro. Após a conferência do teor alcóolico de 70 °GL, o álcool foi armazenado em um frasco âmbar para ser utilizado no preparo de tinturas, este procedimento foi repetido até a obtenção de 11 litros de álcool de cereais 70 °GL para a produção de 10 litros de tintura. Foi utilizado aproximadamente 1 litro de álcool de cereais 70 °GL para umedecer as folhas de *J. pectoralis* antes do preparo da tintura.

#### 4.1.2 Tintura de *Justicia pectoralis*

Para o preparo da tintura, foi utilizado o álcool de cereais 70 °GL preparado anteriormente e folhas de *J. pectoralis* previamente secas e selecionadas na Farmácia da Natureza da Terra da Ismael. A tintura foi produzida utilizando as folhas de *J. pectoralis*, na concentração de 10 %, em recipientes de aço inox previamente higienizados com álcool de cereais 70 °GL. Foram pesadas 1.000 g de folhas de *J. pectoralis*, que em seguida foram transferidas de modo fracionado para um recipiente de aço inox, onde foi adicionado álcool de cereais 70 °GL para umedecer as folhas, que em seguida foram transferidas para o liquidificador onde foram adicionados 10L do álcool de cereais 70 °GL para que se obtivesse a tintura à 10 %, a mistura foi processada e em seguida transferida para recipientes de inox fechados, onde

permaneceu por 7 dias. Após este período a solução foi filtrada e obteve-se a tintura de *J. pectoralis*, o teor alcóolico foi ajustado e em seguida a tintura foi envasada em 100 frascos de 60 mL, sendo 50 frascos pet âmbar para o estudo de estabilidade e 50 frascos pet transparentes que serão utilizados no estudo de fotoestabilidade.

#### 4.1.3 Xarope Fitoterápico de *Justicia pectoralis*

##### 4.1.3.1 Xarope base

O xarope base, foi preparado conforme descrito no Formulário Fitoterápico da Farmácia da Natureza da Terra de Ismael página 316 e encontra-se literalmente, abaixo descrito (PEREIRA et al., 2020).

**Quadro 1.** Descrição de componentes e quantidades para a produção de xarope base

<b>Componente</b>	<b>Quantidade/L</b>	<b>Quantidade Utilizada</b>
Açúcar Orgânico	850 g	5.950 g
Água purificada	463 mL	2.778 mL
Nipagin® 0,2 %	2 g	12 g
Volume Final	1 L	6 L

Foram pesados 5,950 kg de açúcar orgânico, em seguida foi adicionado 2,778 L de água destilada. O açúcar foi parcialmente solubilizado com o auxílio de um bastão de vidro e em seguida o recipiente com a solução foi levado ao fogo, onde permaneceu sob agitação manual e com temperatura controlada por termômetro abaixo de 80 °C (para evitar a inversão do açúcar), até a completa solubilização do açúcar e a solução atingir o ponto de xarope. Em seguida, a temperatura foi monitorada até estar abaixo de 40 °C para a adição do conservante Nipagin (12 g), que foi previamente solubilizado em álcool de cereais. A solução foi homogeneizada com o auxílio do bastão de vidro, e o xarope base já finalizado foi utilizado na preparação do xarope fitoterápico de *J. pectoralis* descrita no item 4.1.3.2.

#### 4.1.3.2 Preparo do Xarope Fitoterápico de *J. Pectoralis*

O xarope fitoterápico foi preparado conforme descrito no Formulário Fitoterápico da Farmácia da Natureza da Terra de Ismael, página 317 (PEREIRA et al., 2020).

Para o preparo do xarope fitoterápico de *J. pectoralis*, foram utilizados a tintura a 10 % preparada conforme descrito no item 4.1.2 e o xarope base preparado conforme descrito no item 4.1.3.1, foi utilizada a tintura na proporção de 20 % v/v, sendo assim para cada litro de xarope produzido foram utilizados 200 mL de tintura e 800 mL de xarope base. Para a produção de 6 litros de xarope fitoterápico de *J. pectoralis* foram utilizados 1,2 L de tintura e 4,8 L de xarope base, que foram homogeneizados e envasados em 30 frascos pet âmbar de 100 mL (estudo de estabilidade) e 30 frascos pet transparentes de 100 mL (estudo de fotoestabilidade).

Os frascos foram armazenados em temperatura ambiente e transportados para a Universidade de Ribeirão Preto – UNAERP, onde foram armazenados em estufas para dar início aos estudos de estabilidade e fotoestabilidade.

#### 4.2 ESTUDO DE ESTABILIDADE DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE *J. pectoralis*.

As amostras foram armazenadas em estufa com temperatura e controlada, previamente verificada, antes do armazenamento das amostras para garantir a uniformidade da temperatura. Para a realização de todo o estudo, foram seguidas as especificações contidas na RDC nº 318/2019, que estabelece os critérios para a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, no Guia nº 28 - Medicamentos, versão 1 de 2019 produzido pela ANVISA para complementar a RDC 318/2019 e nas especificações da Farmacopeia Brasileira. O estudo de estabilidade acelerado, foi realizado durante o período de 6 meses (Fevereiro/2022 à Agosto/2022), com análises no tempo inicial, no terceiro e no sexto mês, através de testes físico-químicos: determinação do pH, densidade, características organolépticas, determinação de volume, teor alcóolico (tintura), Microbiológicos (contagem do número total de microrganismos mesofílicos, pesquisa de microrganismos patogênicos) e do monitoramento dos metabólitos secundários

utilizando cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

O estudo de estabilidade de longo prazo, foi realizado no período de 12 meses (Fevereiro/2022 à Fevereiro/2023) com análises de amostras no tempo inicial, 3<sup>o</sup>, 6<sup>o</sup>, 9<sup>o</sup> e 12<sup>o</sup> mês através de testes físico-químicos (determinação do pH, densidade, características organolépticas, determinação de volume), microbiológicos (contagem do número total de microrganismos mesofílicos, pesquisa de microrganismos patogênicos) e do monitoramento do metabólito secundário cumarina, utilizando cromatografia em camada delgada (CCD) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC).

Os dados obtidos através das análises foram registrados em cada etapa do experimento e serão disponibilizados para a Farmácia da Natureza, com a finalidade de validar a vida de prateleira atual das formas farmacêuticas analisadas, bem como estabelecer novos parâmetros, baseados nos resultados obtidos, se necessário, com a finalidade de otimizar o controle de qualidade de farmácias vivas e garantir maior segurança no uso de medicamentos fitoterápicos.

#### 4.2.2 Avaliação dos Parâmetros Físico-químicos

##### 4.2.1.1 Determinação da Densidade

A determinação da densidade do xarope e tintura foi feita utilizando o método do picnômetro, conforme a orientação descrita na Farmacopeia Brasileira.

Foi utilizado um picnômetro limpo e seco, com capacidade de 5 mL previamente calibrado. Sendo a calibração, a determinação da massa do picnômetro vazio e da massa de seu conteúdo com água purificada a 20 °C. Para a determinação da densidade, a amostra foi transferida para o picnômetro, o excesso de amostra retirado, sempre que necessário, e o picnômetro foi pesado. A densidade relativa da amostra é obtida por meio do cálculo da diferença de massa do picnômetro cheio e vazio. A densidade foi calculada, determinando a razão entre a massa da amostra líquida e a massa da água, ambas a 20 °C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

#### 4.2.1.2 Determinação do pH

A determinação do pH nas soluções amostra foi feita utilizando o phmetro previamente calibrado. A solução amostra foi colocada em um béquer e o eletrodo introduzido na solução, após a aferição do pH, o eletrodo foi lavado com água purificada, foram realizadas três leituras em cada amostra, o resultado foi registrado. Procedimentos sistemáticos foram adotados visando evitar a contaminação das soluções amostras, como o fechamento imediato dos frascos contendo as soluções, e o uso de recipientes individuais para a leitura com o eletrodo (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

#### 4.2.1.3 Determinação do teor alcóolico

Para a determinação do teor alcóolico da tintura de *Justicia pectoralis*, foi utilizado o alcoômetro centesimal, que se destina à determinação do grau alcóolico das misturas de água e álcool, indicando somente a concentração do álcool em volume e expresso pela sua unidade de medida, grau Gay-Lussac (°GL).

As determinações do alcoômetro são exatas somente para a mistura de água e álcool a 20 °C, na qual o instrumento foi graduado. Se a temperatura durante o ensaio for inferior ou superior a 20 °C torna-se necessário corrigir a temperatura do álcool para 20 °C. A determinação do grau alcóolico das misturas de água em volume é realizada pelo alcoômetro. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

#### 4.2.1.4 Determinação do volume

O volume das amostras foi determinado com auxílio de uma proveta, o conteúdo de cada amostra foi vertido individualmente na proveta e o volume registrado. A determinação do volume foi realiza no dia inicial ( $T_0$ ) e a cada 3 meses até o período final do estudo de estabilidade de longa duração (12 meses). Foi observado se as amostras cumprem a especificação, o volume médio não deve ser inferior ao volume declarado e o volume individual de nenhuma das unidades testadas deve ser inferior a 95,0 % do volume declarado.

#### 4.2.2 Análise Microbiológica

A análise microbiológica compreende os testes de contagem de microrganismos mesofílicos e pesquisa de microrganismos patogênicos incluindo as bactérias bile tolerantes e patógenos específicos para cada uma das formas farmacêuticas, sendo os meios seletivos e de enriquecimento selecionados de acordo com preconização farmacopeica (Farmacopeia Brasileira, 2019). Esta análise foi realizada no dia inicial e a cada 3 meses até o período final do estudo de estabilidade de longa duração.

##### 4.2.2.1 Preparo de meios de cultivo

De acordo com as instruções de cada fabricante, foram preparadas placas de Petri contendo os meios Tryptic Soy Agar (TSA), Ágar Sabouraud-dextrose (SAB), Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB), Ágar MAcConkey (MAC) e Ágar Manitol (MAS) onde foram adicionados separadamente, de 15 mL a 20 mL do meio de cultura em placas identificadas, o que pode ser observado na Figura 3.

Os meios foram preparados conforme descritos à seguir:

**Tryptic Soy Agar (TSA) :** Em uma garrafa Boeco foram adicionados 8g do TSA pó e 200ml de água, a garrafa contendo o meio foi autoclavada e em seguida levada ao banho até atingir a temperatura de cerca de 37°C e o meio foi transferido para as placas na cabine de fluxo laminar.

**Ágar Sabouraud-dextrose (SAB):** Em uma garrafa Boeco foram adicionados 13g do SAB pó e 200ml de água, a garrafa contendo o meio foi autoclavada e em seguida levada ao banho até atingir a temperatura de cerca de 37°C e o meio foi transferido para as placas na cabine de fluxo laminar.

**Ágar Eosina Azul de Metileno (EMB):** Em uma garrafa Boeco foram adicionados 7g do EMB pó e 200ml de água, a garrafa contendo o meio foi autoclavada e em seguida levada ao banho até atingir a temperatura de cerca de 37°C e o meio foi transferido para as placas na cabine de fluxo laminar.

**Ágar Mac Conkey (MAC):** Em uma garrafa Boeco foram adicionados 5g do MAC pó e 100ml de água, a garrafa contendo o meio foi autoclavada e em seguida levada ao banho até atingir a temperatura de cerca de 37°C e o meio foi transferido para as placas na cabine de fluxo laminar.

Ágar Manitol (MAS) : Em uma garrafa Boeco foram adicionados 11,1g do MAS pó e 100ml de água, a garrafa contendo o meio foi autoclavada e em seguida levada ao banho até atingir a temperatura de cerca de 37°C e o meio foi transferido para as placas na cabine de fluxo laminar.

**Figura 3.** Placas de petri contendo os meios de cultura.



**Fonte:** Autora, 2022.

#### **4.2.2.2 Contagem do número total de microrganismos mesofílicos**

As amostras para a análise microbiológica da tintura foram preparadas utilizando 10 mL de amostra da tintura, que foi transferida para uma garrafa do tipo Boeco contendo 100 mL do meio Caldo Triptona Soja (TSB) e em seguida foi incubada à 37 °C durante 2 horas.

As amostras para a análise microbiológica do xarope, foram preparadas utilizando 10 mL de amostra que foi adicionado ao meio Dey Engley e após a homogeneização permaneceu em temperatura ambiente durante 20 minutos para inativação do conservante utilizado na preparação do xarope. Em seguida, uma alíquota de 10 mL da solução contendo amostra e Dey Engley foi transferida para uma garrafa do tipo Boeco contendo 100 mL do meio Caldo Triptona Soja (TSB) e incubada à 37 °C durante 2 horas.

Decorrido o período de incubação, foi adicionado à superfície de cada meio de cultura, 0,1 mL da amostra preparada como descrito anteriormente, e em seguida as placas foram incubadas por 5 dias em estufa à temperatura de  $35 \pm 2,5$  °C.

As placas contendo Ágar Sabouraud-dextrose foram incubadas durante cinco a sete dias em estufa à temperatura de  $25 \pm 2,5$  °C, para determinação do número de microrganismos aeróbios totais, bolores e leveduras, respectivamente. Foi utilizada a média aritmética das placas de cada meio para calcular o número de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) por grama ou mL do produto.

#### **4.2.2.3 Pesquisa de microrganismos patogênicos: Bactérias Gram-negativas bile tolerantes**

Este método possibilita a verificação da presença ou a ausência de microrganismos específicos em meios seletivos. Os procedimentos devem incluir etapas de pré-enriquecimento, com a finalidade de garantir a recuperação dos microrganismos, caso estejam presentes no produto (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

Teste de ausência: As amostras preparadas na etapa anterior (item 4.2.2.2), utilizando o meio de cultura TSB e incubadas por 2 horas em estufa, foram utilizadas nesta etapa, sendo uma alíquota de 10 mL de cada amostra transferida para garrafas do tipo Boeco contendo 100 mL do caldo de enriquecimento para enterobactérias Mossel, e em seguida a solução foi incubada por 24 horas em estufa à  $35 \pm 2,5$  °C.

Após o período de incubação, uma alíquota de 0,1 mL da solução foi transferida para um tubo do tipo falcon, cônico de centrífuga, contendo 10 mL do meio de cultura caldo *Salmonella* Rappaport Vassiliadis (Caldo Rappaport) e incubada por 18 horas na estufa à  $35 \pm 2,5$  °C. Após este período, 0,1 mL da solução foi adicionado à superfície da placa contendo o meio Ágar Xilose Lisina Desoxicolato (XLD), que permanecerá na estufa a  $35 \pm 2,5$  °C por 48 horas. Os procedimentos descritos nesta etapa foram realizados com amostras de tintura.

As amostras preparadas no item 4.2.2.2, utilizando o meio de cultura TSB e incubadas por 2 horas em estufa, foram inoculadas nas placas de petri contendo os meios Mac Conkey (MAC) e Ágar Manitol (MAS). Os procedimentos descritos nesta etapa foram realizados com amostras de xarope.

O medicamento cumpre o teste caso não haja crescimento de microrganismos.

### 4.3 ESTUDO DE FOTOESTABILIDADE DE TINTURA E XAROPE FITOTERÁPICO DE *J. pectoralis*.

O estudo de fotoestabilidade seguiu os parâmetros descritos na RDC nº 318/219 com a finalidade de avaliar quais os efeitos da exposição à luz na qualidade do medicamento. Devido ao fato de não dispor de câmara de fotoestabilidade, o estudo foi conduzido expondo às amostras envasadas em embalagem pet (quimicamente inerte) transparente à luz, durante 24 horas/dia em ambiente com temperatura controlada de 25 °C, durante 12 meses. As amostras foram dispostas de modo que todas as unidades ficassem expostas à luz.

**Figura 4.** Amostras expostas à luz.



**Fonte:** Autora, 2022

As amostras foram analisadas em todos os demais testes aos quais as demais amostras do estudo de curta e longa duração foram submetidas, durante o período de até 12 meses. Os resultados foram registrados e constam na demonstração dos resultados deste experimento. O medicamento é considerado fotoestável caso não haja perda significativa da qualidade do produto conforme especificação. Caso haja alteração, deve constar a recomendação de utilização de frasco adequado e a orientação de armazenar ao abrigo da luz no rótulo.

### 4.4 MONITORAMENTO DOS MARCADORES QUÍMICOS DO XAROPE FITOTERÁPICO *J. pectoralis* POR MEIO DE CCDC E HPLC.

No controle de qualidade químico, dos fitoterápicos produzidos e fornecidos pela Farmácia da Natureza, localizada no distrito de Jurucê, município de Jardinópolis – SP, foram empregados procedimentos cromatográficos para a identificação de metabólitos secundários por comparação de “*fingerprint*” em relação a um padrão de referência.

A cromatografia em camada delgada comparativa (CCDC) tem sido citada em monografias de controle de qualidade extratos e fitoterápicos pelas farmacopeias de muitos países, devido ao fato de apresentar uma boa relação custo-benefício, pois possui baixo custo, fácil execução e eficiência de análise.

Para a análise de cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas cromatográficas pré-revestidas com sílica gel 60 com indicador fluorescente UV<sub>254</sub>, como fase estacionária. A amostra de tintura foi aplicada pura e o xarope foi diluído em metanol (1:2). O padrão de Cumarina (lote: 17H3404) foi dissolvido em metanol, na concentração de 1 mg/mL de solvente. As análises em CCDC foram realizadas utilizando placas cromatográficas, preparadas na seguinte ordem: Tintura de *J. pectoralis*; Xarope de *J. pectoralis*; Padrão de cumarina.

A CCDC foi realizada utilizando placas cromatográficas com uma dimensão de 20 cm x 10 cm pré-revestidas com sílica 60 F254. Os eluentes empregados foram Hexano: Acetato de Etila (1:1) determinados após análise da literatura, a solução mãe de padrão utilizada foi a cumarina. As placas foram reveladas através de luz ultravioleta, seguida do revelador químico hidróxido de potássio a 10 %, que caracteriza os grupamentos funcionais do metabólito secundário presente nas formas farmacêuticas analisadas.

A presença e o teor dos marcadores químicos presentes na formulação foram monitorados utilizando HPLC. Para a análise utilizando HPLC, as amostras foram diluídas na concentração de 1:5 na fase móvel (metanol) e filtradas utilizando um filtro de 0.45 µm (Millipore, USA), em seguida, foram transferidas para tubos do tipo vial identificados, que foram utilizados na análise. A análise foi desenvolvida nas seguintes condições: coluna C18, fase móvel (A, água: ácido fórmico 0,1%; B, metanol: ácido fórmico 0,1%), eluição gradiente, volume de injeção 20 µL, “*flow rate*” 1mL/min e  $\lambda = 277$  nm, temperatura 25 °C, tempo de retenção: 9,5-9,75 min.

Os dados obtidos em cada etapa de análise foram registrados e constam nos resultados do controle de qualidade químico de cada forma farmacêutica, indicando a presença/ausência dos marcadores no fitoterápico.

## 5. RESULTADOS

Concluídas as análises dos estudos de estabilidade acelerado/curta duração, estudo de estabilidade de longa duração e estudo de fotoestabilidade. Os resultados obtidos em cada etapa de análise foram registrados em um laudo de controle de qualidade, os dados contidos nos laudos de cada análise por período de tempo (T<sub>0</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>6</sub>, T<sub>9</sub>, T<sub>12</sub>) estão demonstrados nas tabelas a seguir.

### 5.1 RESULTADOS DAS ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE TINTURA

<b>Tabela 1. Análise Inicial (T<sub>0</sub>) – Tintura de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>T30C</b>	<b>T30E</b>	<b>T40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,8-1,0 g/mL
<b>pH</b>	7,83	7,83	7,83	6,0 – 8,0
<b>Teor alcóolico</b>	70 °GL	70 °GL	70 °GL	70 °GL
<b>Volume</b>	60 mL	60 mL	60 mL	>57 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumprido teste	Cumprido teste	Cumprido teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	1,05 mg/mL	1,05 mg/mL	1,05 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<b>Referências</b>	BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

<b>Tabela 2. Análise 3 meses (T<sub>3</sub>) – Tintura de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>T30C</b>	<b>T30E</b>	<b>T40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,8-1 g/mL
<b>pH</b>	7,04	6,94	6,88	6,0 – 8,0
<b>Teor alcóólico</b>	70 °GL	70 °GL	70 °GL	70 °GL
<b>Volume</b>	60 mL	60 mL	60 mL	>57 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpro teste	Cumpro teste	Cumpro teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	1,10 mg/mL	1,11 mg/mL	1,12 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<b>Referências</b>	BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

<b>Tabela 3. Análise 6 meses (T<sub>6</sub>) – Tintura de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>T30C</b>	<b>T30E</b>	<b>T40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,90 g/mL	0,8- 1,0 g/mL
<b>pH</b>	7,04	6,94	6,88	6,0 – 8,0
<b>Teor alcóolico</b>	70 °GL	70 °GL	70 °GL	70 °GL
<b>Volume</b>	60 mL	60 mL	60 mL	>57 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpro teste	Cumpro teste	Cumpro teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	1,22 mg/mL	1,18 mg/mL	1,21 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<b>Referências</b>	BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

<b>Tabela 4. Análise 9 meses (T<sub>9</sub>) – Tintura de <i>Justicia pectoralis</i></b>			
<b>Teste</b>	<b>T30C</b>	<b>T30E</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,8-1 g/mL
<b>pH</b>	7,04	6,94	6,0 – 8,0
<b>Teor alcóolico</b>	70 °GL	70 °GL	70 °GL
<b>Volume</b>	60 mL	60 mL	>57 mL
<b>Características Organolépticas</b>			
Cor	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico
Sabor	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpro teste	Cumpro teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	1,10 mg/mL	1,11 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>			
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>			
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	AUSENTE
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

<b>Tabela 5. Análise 12 meses (T<sub>12</sub>) – Tintura de <i>Justicia pectoralis</i></b>			
<b>Teste</b>	<b>T30C</b>	<b>T30E</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	0,88 g/mL	0,88 g/mL	0,8-1 g/mL
<b>pH</b>	7,12	6,94	6,0 – 8,0
<b>Teor alcóolico</b>	70 °GL	70 °GL	70 °GL
<b>Volume</b>	60 mL	60 mL	>57 mL
<b>Características Organolépticas</b>			
Cor	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico
Sabor	Levemente amargo	Levemente amargo	Levemente amargo
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpe o teste	Cumpe o teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	1,10 mg/mL	1,11 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>			
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>			
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella spp.</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

## 5.2 RESULTADOS DAS ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE XAROPE

<b>Tabela 6. Análise Inicial (T<sub>0</sub>) – Xarope de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>X30C</b>	<b>X30E</b>	<b>X40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,20-1,32 g/mL
<b>pH</b>	6,68	6,68	6,68	5,5-7,0
<b>Volume</b>	100 mL	100 mL	100 mL	>95 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Doce	Doce	Doce	Doce
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	cumarínico Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpre o teste	Cumpre o teste	Cumpre o teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	0,26 mg/mL	0,26 mg/mL	0,26 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
Bile tolerantes	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>2</sup> UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.				

<b>Tabela 7. Análise 3 meses (T<sub>3</sub>) – Xarope de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>X30C</b>	<b>X30E</b>	<b>X40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,26 g/mL	1,20-1,32 g/mL
<b>pH</b>	7,04	6,94	6,88	5,5-7
<b>Volume</b>	100 mL	100 mL	99 mL	>95 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Doce	Doce	Doce	Doce
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	cumarínico Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpro teste	Cumpro teste	Cumpro teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	0,11 mg/mL	0,13 mg/mL	0,11 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	-10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	-10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
Bile tolerantes	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>2</sup> UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.				

<b>Tabela 8. Análise 6 meses (T<sub>6</sub>) – Xarope de <i>Justicia pectoralis</i></b>				
<b>Teste</b>	<b>X30C</b>	<b>X30E</b>	<b>X40</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,20-1,32 g/mL
<b>pH</b>	7,04	6,94	6,88	5,5 – 7,0
<b>Volume</b>	100 mL	100 mL	98 mL	>95 mL
<b>Características Organolépticas</b>				
Cor	Verde	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico	Característico
Sabor	Doce	Doce	Doce	Doce cumarínico
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpre o teste	Cumpre o teste	Cumpre o teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	0,08 mg/mL	0,09 mg/mL	0,08 mg/mL	
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>				
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	-10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	-10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>				
Bile tolerantes	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>2</sup> UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	Ausente	
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.				

<b>Tabela 9. Análise 9 meses (T<sub>9</sub>) – Xarope de <i>Justicia pectoralis</i></b>			
<b>Teste</b>	<b>X30C</b>	<b>X30E</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	1,25 g/mL	1,25 g/mL	1,20-1,32 g/mL
<b>pH</b>	6,68	6,68	5,5-7,0
<b>Volume</b>	100 mL	100 mL	>95 mL
<b>Características Organolépticas</b>			
Cor			
Odor	Verde	Verde	Verde
Sabor	Característico	Característico	Característico
	Doce	Doce	Doce cumarínico
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumpre o teste	Cumpre o teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	0,26 mg/mL	0,26 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>			
Bactérias			
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>			
Bile tolerantes			
<i>Escherichia coli</i>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>2</sup> UFC/mL
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
	Ausente	Ausente	AUSENTE
Referencias: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

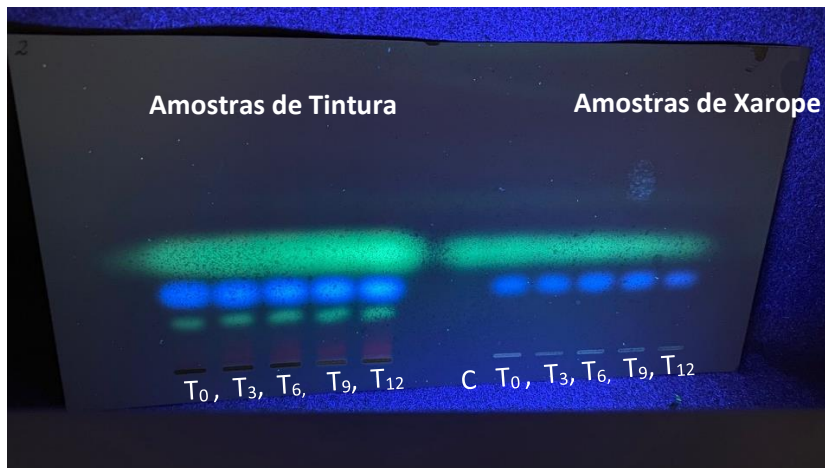
<b>Tabela 10. Análise 12 meses (T<sub>12</sub>) – Xarope de <i>Justicia pectoralis</i></b>			
<b>Teste</b>	<b>X30C</b>	<b>X30E</b>	<b>Referência</b>
<b>Densidade</b>	1,25 g/mL	1,26 g/mL	1,20-1,32 g/mL
<b>pH</b>	6,1	6	5,5-7,0
<b>Volume</b>	100 mL	100 mL	>95 mL
<b>Características Organolépticas</b>			
Cor	Verde	Verde	Verde
Odor	Característico	Característico	Característico
Sabor	Doce	Doce	Doce cumarínico
Aspecto/aparência	Líquido	Líquido	Líquido
<b>Cromatografia em Camada Delgada</b>	Cumprido o teste	Cumprido o teste	Presença de Cumarina
<b>Teor (HPLC)</b>	0,26 mg/mL	0,26 mg/mL	-----
<b>Contagem de Microrganismos Mesófilos</b>			
Bactérias	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>4</sup> UFC/mL
Fungos/Leveduras	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>1</sup> UFC/mL	<10 <sup>2</sup> UFC/mL
<b>Contagem de Microrganismos Patogênicos</b>			
Bile tolerantes	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>1</sup>	< 10 <sup>2</sup> UFC/mL
<i>Escherichia coli</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Salmonella</i> spp.	Ausente	Ausente	AUSENTE
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausente	Ausente	AUSENTE
Referências: BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira. Volume 1. 6ª Edição. Brasília: ANVISA, p. 391-425, 2019.			

Após 12 meses de exposição às condições térmicas exigidas para os estudos (temperatura de 30 °C e 40 °C), bem como as condições de exposição ou proteção da luz, as amostras se mantiveram dentro dos parâmetros desejados para o controle de qualidade, sendo assim, os estudos de curto prazo e longo prazo apresentaram resultado satisfatório. As amostras armazenadas à temperatura de 30 °C em condições de ambiente e embalagem clara e ambiente e embalagem escuro continuaram à serem analisadas até o prazo de 12 meses de acompanhamento para avaliação da estabilidade a longo prazo, e permaneceram estáveis durante o período.

### 5.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES DE CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.

A cromatografia em camada delgada foi realizada ao final de 12 meses para verificar a presença de cumarina, utilizando amostras de todos os tempos de análise que foram mantidas congeladas para serem utilizadas na placa ao final do período de 12 meses.

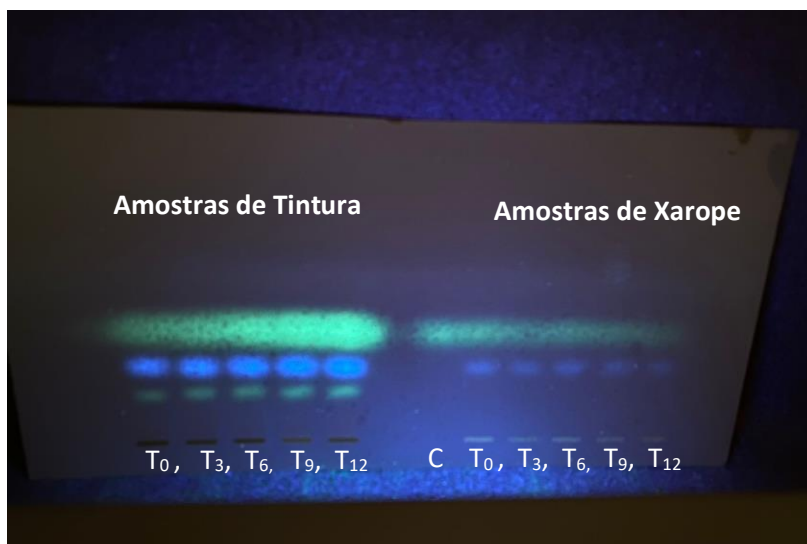
**Figura 5. Cromatografia em camada delgada 264nm**



**Legenda:** Placa cromatográfica revelada observada em luz UV 264 nm. C= padrão cumarina  
 T<sub>0</sub> = dia 0, T<sub>3</sub> = 3 meses, T<sub>6</sub>= 6meses, T<sub>9</sub>= 9 meses, T<sub>12</sub>= 12 meses.

**Fonte:** Autora, 2023

**Figura 7. Cromatografia em camada delgada 365 nm**



**Legenda:** Placa cromatográfica revelada observada em luz UV 365 nm. C= padrão cumarina  
 T<sub>0</sub> = dia 0, T<sub>3</sub> = 3 meses, T<sub>6</sub>= 6meses, T<sub>9</sub>= 9 meses, T<sub>12</sub>= 12 meses.

**Fonte:** Autora, 2023

## 6. DISCUSSÃO

A RDC nº 318/2019, estabelece que o estudo de estabilidade de curto prazo concluído, deve ser apresentado, ainda que o estudo de estabilidade de longa duração esteja finalizado. O prazo de validade do produto será determinado com base nos dados obtidos em ambos os estudos, quando o estudo de estabilidade acelerado estiver concluído e o estudo de longa duração estiver em andamento, o prazo de validade provisório será definido com base em dados estatísticos e histórico dos resultados apresentados, permitindo a adição de até 12 meses.

Quando houver alteração significativa durante o período de 3-6 meses do estudo de estabilidade acelerado, o prazo de validade provisório será baseado na avaliação estatística dos dados do estudo de longa duração. São consideradas alterações significativas: qualquer resultado fora do limite especificado, alterações significativas no perfil cromatográfico ou perda de 10 % no teor do IFA para medicamentos que contenham IFA vegetal ou perda de peso maior ou igual a 5 % em 3 meses.

Durante os estudos não houveram alterações relevantes nos parâmetros físico-químicos e microbiológicos dos produtos analisados, a presença de cumarina foi detectada em todas as análises nos métodos cromatográficos. O teor de cumarina no xarope apresentou queda no período de análise de 3 e 6 meses e retornou ao teor na análise de 9 meses, se mantendo dentro do padrão no período de 12 meses.

Segundo Penha *et al.* (2009) em um estudo com a finalidade de avaliar o teor de cumarina em xarope de guaco, observou-se o fenômeno de queda e elevação do teor de cumarina indicando a perda por volatilização e o equilíbrio *cis-trans* como os responsáveis pelos fenômenos de queda e elevação do teor de cumarina, observados no xarope, em função da temperatura, que pode promover a abertura do anel cumarínico com o tempo de armazenamento, e a temperatura mais elevada, o equilíbrio se desloca de forma a promover a ciclização do precursor em cumarina justificando, desta maneira, o aumento do teor, apesar da perda por volatilização.

## 7. CONCLUSÃO

Concluídas todas as etapas do estudo de estabilidade e fotoestabilidade ambos os fitoterápicos produzidos de *Justicia pectoralis* mantiveram-se estáveis durante o período do experimento. Não havendo alteração ou perda significativa da qualidade e quantidade do produto.

Sendo assim, os medicamentos analisados cumprem os testes e se mantiveram dentro das especificações para a obtenção do prazo de validade de 12 meses. Devido à oscilação no teor de cumarina apresentada no xarope, associada à variação de temperatura, o cuidado de armazenar em local fresco (temperatura ambiente 25 °C) é recomendado.

O estudo de fotoestabilidade não demonstrou alterações significativas no teor da cumarina, havendo apenas alteração na coloração do xarope, o uso de embalagem ambar, protegeu as demais amostras da alteração física, sendo assim, o armazenamento do fitoterápico em frasco ambar apresentou melhor eficácia na preservação dos fitoterápicos.

O monitoramento da presença de cumarina através da CCD é uma alternativa eficiente e acessível às Farmácias Vivas que possuem menos recursos, sendo de baixo custo e fácil execução.

Um estudo de acompanhamento, que pode ser conduzido por até 36 meses pode ser relevante para prolongar o prazo de validade do fitoterápico, pois sendo produzido com a finalidade de atender ao SUS (Serviço Único de Saúde), promoveria o melhor acesso aos medicamentos em regiões mais distantes, onde a logística dificulta a entrega do medicamento ao centro de distribuição, através de remessas em maior quantidade e com maior espaço de tempo entre os envios, garantindo o acesso mais facilitado ao paciente.

## REFERENCIAS

AMARAL, M. P.H; VIEIRA, F.P; LEITE, M.N; AMARAL, L.H; PINHEIRO, L.C; FONSECA, B.G; PEREIRA, M.C.S; VAREJÃO, E.V. Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas **Revista Brasileira de Farmacognosia** 19(2B): 607-611, Abr./Jun. 2009.  
<https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400017>, acesso em 10/08/23.

ARGENTON, A. **Conceitos fundamentais de Cromatografia a líquido de Alto Desempenho (HPLC)**. 2010. Agilent Technologies. Disponível em:  
<https://pt.scribd.com/document/78194865/HPLC-CRQ>. Acesso em 13/12/21.

ANVISA. AGÊNCIA BRASILEIRA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RDC nº 04, de 18 de junho de 2014. **Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico**. Brasília. 2014. p. 43. Disponível em:  
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/33836/2501251/Guia%2Bfinal%2Bdicol%2B180614+%282%29.pdf/f400c535-e803-4911-9ef8-100c0c2bb3c6>. Acesso em: 20/11/2021.

ANVISA. AGÊNCIA BRASILEIRA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RDC Nº 318, DE 6 DE NOVEMBRO DE 2019**. Brasília. 2019. Disponível em:  
[https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898778/RDC\\_318\\_2019\\_.pdf/72014894-122d-433e-97b0-2c48bfb4ab54](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3898778/RDC_318_2019_.pdf/72014894-122d-433e-97b0-2c48bfb4ab54)  
Acesso em 13/12/2021.

ANVISA. AGÊNCIA BRASILEIRA DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **MEDICAMENTOS – Guia Nº28, versão 1 de 2019**. Brasília. 2019. Disponível em:  
[http://www.engenews.com.br/GUIA\\_E\\_1.PDF.pdf](http://www.engenews.com.br/GUIA_E_1.PDF.pdf). Acesso em 13/12/2021.

Bansal G, Suthar N, Kaur J, Jain A. Stability Testing of Herbal Drugs: Challenges, Regulatory Compliance and Perspectives. **Phytother Res**. 2016 Jul;30(7):1046-58. doi: 10.1002/ptr.5618. Epub 2016 Apr 13. PMID: 27073177. Acesso em 10/04/2021.

BRASIL. Formulário de fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2011. 126 p.

CARDOSO, Caroly Mendonça Zanolli. Identificação química, *In*: CARDOSO, C. M.Z. **Manual de controle de qualidade de matérias-primas vegetais para farmácia magistral**. 1. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2009. p. 49-68.

CECHINEL FILHO, Valdir; YUNES, Rosendo A. Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 99-105, fev. 1998. Disponível em  
<http://www.scielo.br/pdf/qn/v21n1/3475>. Acesso em:10/12/2021.

**Conceitos Básicos em Cromatografia Líquida | HPLC**. 2019. Disponível em:  
<https://csaeducacional.com.br/materias/conceitos-basicos-em-cromatografia-liquida-hplc>. Acesso em 05/12/2021.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P.C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química nova na escola**. n. 7, p 21-25. Maio. 1998. Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>. Acesso em: 10/12/2021.

FONSECA, Francisco N.; SILVA, Aline Holanda; LEAL, Luzima. K.A.M (2010). *Justicia pectoralis* Jacq.; Acanthaceae: preparation and characterisation of the plant drug including chromatographic analysis by HPLC-PDA. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20, 871-877. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010005000049>, acesso em 03/12/21.

LIMA, P.Z.; PEREIRA, A.M.S. **Cultivo e teor de cumarinas em *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonar**. UNESP.2018. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/153577>>. Acesso em: 15/11/21.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2008. 576p.

Amaral, M. da P. H. do ., Vieira, F. P., Leite, M. N., Amaral, L. H. do ., Pinheiro, L. C., Fonseca, B. G., Pereira, M. C. S., & Varejão, E. V.. (2009). Determinação do teor de cumarina no xarope de guaco armazenado em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira De Farmacognosia**, 19(2b), 607–611. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000400017>. Acesso em 10/11/2023.

PEREIRA, Ana Maria Soares et. al. **Formulário Fitoterápico da Farmácia da Natureza** , 2020. 3ª edição, 466p.

PIRANI, A.C.; GUIDI, A.C.; ROMANICHEM, F.M.D.F; ORTIZ, M.A.L.; TESTON, A.P.M.; MELLO, J.C.P; ARAUJO, D.C.M. Estudo de estabilidade acelerada de xarope fitoterápico. **Braz. J. of Develop.**, Curitiba, v.6, n.9, p. 69918-69930, sep.2020.

RIBEIRO, C. M. R. et al. A Videoaula “Cromatografia em Camada Delgada” e a Motivação da Aprendizagem nas Disciplinas Experimentais de Química Orgânica dos Cursos de Química, Engenharia Química e Farmácia da UFF. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 3, p. 1030-1055, 2015. Disponível em: < <http://rvq-sub.sbq.org.br/index.php/rvq/article/view/1222>>. Acesso em: 10/12/2021.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SALGADO, H.R.N.; PIETRO, R.C.L.R.O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais **Revista Brasileira de Farmacognosia** 20(3): 435-440, 2008. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2010000300023>. Acesso em 20/08/2022.

TESKE, M.; TRENTINI, A.M.M. **Herbarium compêndio de fitoterapia**. 4.ed. Curitiba: Herbarium Laboratório Botânico Ltda, 2001. 317p.

TOLEDO, A.C.O.; HIRATA, L.L.; BUFFON, M.C.M.; MIGUEL, M.D.; MIGUEL, O.G. fitoterápicos: uma abordagem farmacotécnica, **Revista Lecta**, Bragança Paulista, 21 (9) n. 1/2: 7-13, 2003. Disponível em: [https://douglasporfirionutri.com/wp-content/uploads/2022/05/Fitoterpicos\\_uma\\_abordagem\\_farmacotcnica20160505-1513-pzwb3i-with-cover-page-v2.pdf](https://douglasporfirionutri.com/wp-content/uploads/2022/05/Fitoterpicos_uma_abordagem_farmacotcnica20160505-1513-pzwb3i-with-cover-page-v2.pdf). Acesso em 10/01/2023.