

Análise físico-química de uma formulação transdérmica contendo eugenol para pacientes diabéticos – Uma Inovação Tecnológica

Fernanda Vitória Lins Lima de Oliveira¹
Danielle Kelle Ferreira de Carvalho¹
Larissa Soares Amaral¹
Taíza Vilarino Braga¹
Júnia Carla de Oliveira Alves²

¹Alunas do curso de Farmácia da Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE), Minas Gerais, Brasil

²Orientadora e professora do curso de Farmácia da Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE), Minas Gerais, Brasil

Resumo

O uso de plantas medicinais acompanha a evolução humana e vem ganhando espaço na medicina tradicional e na cosmetologia. Os óleos essenciais são bastante utilizados no campo da fitoterapia, dentre esses óleos temos o Eugenol, que é extraído do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*), é um composto que possui propriedades como, cicatrizante e antidiabética. A Diabetes Mellitus é uma síndrome metabólica causada pela deficiência da produção de insulina ou na má utilização da mesma, podendo causar lesões na pele e em órgãos do indivíduo, para preveni-las é utilizando cremes e emulsões. Devido a isso tornou-se possível a incorporação do Eugenol em uma base transdérmica, o Pentravan®. Foram realizados testes físico-químicos e de estabilidade na nova formulação, o resultado do pH nos testes de estabilidade preliminar mostrou benéfico pois este se assemelha com a pele e na centrifugação não houve separação de fases na formulação, o que indica uma estabilidade no produto, outros testes como condutividade elétrica, análise reológica, estabilidade acelerada e índice de refração, também foram realizados, apresentando resultados positivos, caracterizando-se assim a base transdérmica apropriada para esse óleo essencial. Palavras-chave: cravo-da-índia, análises físico-químicas, creme.

Abstract

The use of medicinal plants has accompanied human evolution and has been gaining more space in traditional medicine as well as in cosmetology. Essential oils are widely used in the field of Phytotherapy. Among them is Eugenol, an essential oil extracted from cloves (*Syzygium aromaticum*) that's a compound with cicatrizing and antidiabetic properties. Diabetes Mellitus is a metabolic syndrome caused by a production deficiency of insulin or when cells don't respond correctly to insulin. This can lead to skin and organ lesions which can be prevented by the usage of creams and emulsions. This being the case, it has become possible to incorporate Eugenol in a transdermal base called

Pentran®. Physicochemical and stability tests were conducted for its new formulation; pH results from the preliminary stability testing showed to be beneficial since it resembles the skin and during centrifugation there was no phase separation in the formulation. This indicates stability in the product. Other tests, such as electrical conductivity, rheological analysis, accelerated stability and refractive index, were conducted and showed positive results, therefore, characterizing an appropriate transdermal base for this essential oil.

Keywords: clove India, physicochemical analysis, cream.

Introdução

O uso de plantas medicinais é uma opção de tratamento que vem crescendo significativamente ao longo dos anos objetivando a busca por alívio e cura de doenças. O conhecimento sobre as vantagens dessas ervas e seu uso popular acompanha a evolução humana. Sendo assim o uso dessas plantas fitoterápicas despertam o interesse dos profissionais da área da saúde para produção de formulações farmacêuticas industrializadas ou manipuladas de forma magistral, por possuir importantes fontes de compostos biologicamente ativos (Maciel et al, 2002; Yunes, Pedrosa & Filho, 2001).

Entre os constituintes naturais abordados na fitoterapia estão os óleos essenciais, que possuem grande potencial terapêutico e farmacológico. Sendo estes produtos naturais, voláteis, lipofílicos, líquidos e complexos, advindo do metabolismo secundário das plantas, possuindo um forte odor característico e com baixa estabilidade, principalmente na presença de luz, ar, umidade, calor e metais. (Edris, 2007; Simões, 2004).

Dentre os óleos essenciais encontra-se o eugenol, que é um dos principais constituintes extraído do cravo da Índia (*Syzygium aromaticum*). Existem outras plantas produtoras, entre elas, destacam-se: *Eugenia caryophyllata*, “cravo-da-Índia”; *Dicarpellium caryophyllatum*, “craveiro do Maranhão ou cravinho”; *Ocimum gratissimum*, “alfava-cravo” e o *Croton zenhneri*, “canela-de-cunha” entre outras. É a gema floral seca muito usada como condimento na culinária por possuir um sabor e aroma forte. (Mazzafera, 2003).

Nas sementes do cravo é possível extrair o ácido eugênico, incolor e de sabor picante. A composição química é dada principalmente pelo eugenol, acetato de eugenol (15%), β -cariofileno (5 a 12%), que juntos com eugenol somam 99% do óleo, ácido oleânico, e substâncias das classes: triterpeno, ceras vegetais, cetonas, resinas, taninos e esteróis. Nas folhas ele chega a representar, aproximadamente, 95% do óleo extraído e no cravo tam-

bém é o principal componente do óleo, variando de 70 a 85% (Raina et al 2001; Brown & Morra 1995, Brown et al, 1991, Ortiz 1992 apud Mazzafera, 2003).

O eugenol é um composto fenólico volátil, cujo nome dado pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) é 4-Alil-2-Metoxifenol, de fórmula molecular $C_{10}H_{12}O_2$ e peso molecular de 164,21. Após a extração, em temperaturas normais, apresenta um líquido viscoso de aparência amarelada, com odor característico do cravo, além do aspecto oleoso, sendo ligeiramente solúvel em água e facilmente em solventes orgânicos. (Almeida, Amaral & Lyra, 2014).

Além de apresentar boa tolerabilidade em contato com a pele e baixa alergenicidade quando acrescentado a produtos pode apresentar efeitos secundários tóxicos, como por exemplo, ele possui uma ação corrosiva. O eugenol tem essa ação, pois ele não é dissolvido em água. A inalação e a ingestão do eugenol podem causar síndrome respiratória e acidose metabólica, respectivamente. Em crianças ele pode causar hipoglicemia e insuficiência hepática (Kong et al, 2014).

O eugenol extraído do *S. aromaticum* tem apresentado ações efetivas em estudos terapêuticos. Suas propriedades e atividades farmacológicas são apresentadas como: atividade anti-inflamatória onde ocorre pela inibição da síntese da prostaglandina, substância que é liberada pelos leucócitos durante o processo inflamatório; atividade cicatrizante, atividade anestésica, atividade antioxidante onde captura átomos de oxigênio, cedendo átomos de hidrogênio e reduz a geração de radicais livres, também pode evitar alterações funcionais de células endoteliais resultantes de oxidado a lipoproteína de baixa densidade (LDL) e elevar a atividade antioxidante para evitar a geração de oxigênio ativo; atividade antitumoral, atividade antimicrobiana porque pode bloquear a força motriz protônica, corrente de elétrons e transporte ativo, e causa a coagulação do conteúdo das células; atividade antifúngica, atividade antiparasitária, ação inseticida, atividade analgésica e atividade antidiabética, pois seu efeito hipoglicemiante age ligeiramente inferior ao da glibenclamida, devido a isso, sugere-se como tratamento complementar ou alimento funcional para pré-diabéticos e pacientes que apresentam diabetes leve e controlada com auxílio de exercício e dieta (Kong et al, 2014; Affonso et al, 2012; Scherer et al, 2009; Tangerino, 2006; Ou et al, 2006).

Para comprovar o efeito antidiabético, foram feitos testes in vivo em ratos diabéticos, que se alimentavam de cravo-da-Índia, e foi possível comprovar uma diminuição da concentração de açúcar e lipídeos na

corrente sanguínea dos ratos diabéticos e a restauração dos níveis de enzimas antioxidantes (Shukri, Mohamed & Mustaha, 2010 apud Affonso et al, 2012).

O Diabetes Mellitus (DM) é uma síndrome metabólica que compromete o metabolismo dos carboidratos, das gorduras e das proteínas, que é ocasionada pela ausência de secreção de insulina ou por redução da sensibilidade dos tecidos à insulina (Contran, Kumar, Robbins, 1994 apud Lucena, 2007).

Existem duas classificações de Diabetes Mellitus, tipo I e tipo II. O tipo I ocorre na infância e na adolescência, podendo surgir até os 30 anos de idade, levando a destruição autoimune das células β das Ilhotas de Langerhans. O indivíduo com essa síndrome, não possui produção de insulina e, dessa forma, a glicose não poderá ser armazenada nas células, provocando aumento no nível glicêmico no sangue. O tipo II, geralmente ocorre em pessoas acima de 40 anos de idade. A secreção de insulina pelo pâncreas é normal, mas sobram insulina e glicose no sangue, e células com pouca glicose. Com a elevada liberação de insulina pelo pâncreas, levam as células β a se deteriorarem. Células β destruídas não ocorrem produção de insulina e o paciente necessita utilizar a insulina e medicamentos para aumentar a sensibilidade da mesma (Guyton & Hall, 2002 apud Lucena, 2007).

Como consequência da má circulação sanguínea dos pacientes portadores de diabetes, podem ocorrer lesões no cérebro, coração, olhos, rins, membros inferiores, nervos e na pele, seja através dos vasos sanguíneos pequenos ou grandes, além disso, retardar a cura das lesões (Smeltzer & Bare, 2002 apud Lucena, 2007).

Pacientes diabéticos possuem alterações no tecido conjuntivo e vascular, essas alterações prejudicam a cicatrização de feridas nos tecidos normais. (Alves et al, 2007). O tecido conjuntivo tem o metabolismo comprometido, isso ocorre devido à redução da função e número de fibroblastos, diminuição da síntese, maturação e estabilidade do colágeno, e uma quantidade maior de plasmócitos (Ferreira & Vannucci, 2004 apud Alves et al, 2007).

A fim de tornar possível a penetração de fármacos sobre a pele sem que o paciente tenha que ingerir o medicamento, foram criados os transdérmicos. (Sawamura & Franco, 2004). Quando liberadas substâncias ativas de sistemas transdérmicos aplicados sobre a pele, conseguem atravessar várias camadas e alcançam a corrente sanguínea em uma velocidade permanente, esta ação tem duração de um período de tempo mais ou menos longo (Lucinda & Evangelista, 1999 apud Sawamura & Franco, 2004).

Deste modo, a pele é considerada a via que pode revolucionar a aplicação de medicamentos como anti-inflamatórios, hormônios e outros que podem causar riscos aos pacientes quando forem administrados por vias diferentes (Lopes, 2000 apud Sawamura & Franco, 2004).

Para aquisição dos sistemas transdérmicos é necessário que ele possua características físico-químicas que admitem a liberação do fármaco presente e aceitem sua penetração através da pele (Lucinda & Evangelista, 1999 apud Sawamura & Franco, 2004). É importante que o fármaco utilizado tenha capacidade suficiente para preservar sua eficácia após atravessar as camadas da pele e corrente sanguínea, até chegar ao seu alvo terapêutico (Nothen, 2001 apud Sawamura & Franco, 2004).

É necessário que a permeação de fármacos na pele aconteça por difusão através de três caminhos: pela penetração através do estrato córneo, penetração através das glândulas sudoríparas e penetração através dos folículos pilosos e glândulas sebáceas associadas. Sendo a penetração através do estrato córneo o principal caminho de permeação. (Sawamura & Franco, 2004).

Existem vários fatores que atingem a permeação, como por exemplo: a solubilidade, concentração, características físico-químicas, natureza particular do fármaco, condição da pele e presença de umidade são alguns fatores consideráveis que atingem a permeação dos medicamentos (Melendres, 1992 apud Sawamura & Franco, 2004); o fármaco deve mostrar maior afinidade físico-química com a pele do que com o veículo no qual é incorporado, para que migre do veículo em favor da pele; para uma absorção efetiva deve ser considerado essencial certo grau de solubilidade do fármaco tanto em lipídeos, quanto em água e partição entre óleo e água (Sawamura & Franco, 2004).

A liberação do fármaco de uma formulação a ser aplicada na pele e o seu caminho até a circulação é um procedimento que envolve passos como: a dissolução dentro da formulação e liberação da mesma; partição em água e óleo dentro do estrato córneo que é a camada mais externa da pele; difusão através do estrato córneo até a epiderme viável (camada basal ou germinativa); difusão através da epiderme viável até a derme e entrada nos capilares reticulares e eventualmente na circulação sistêmica (Kalia & Guy, 2001 apud Sawamura & Franco, 2004).

Entre os transdérmicos encontra-se o Pentravan® que é uma emulsão óleo em água de penetração transdérmica, possui uma matriz fosfolipídica que aumen-

ta a permeação cutânea dos fármacos. É considerada uma base adequada para moléculas lipofílicas. Dentre as vantagens é que possui alta afinidade com a membrana celular, suportam hormônios, anti-inflamatórios, corticoides, relaxantes musculares, anestésicos entre outras categorias de fármacos e facilita a adesão do paciente ao tratamento por apresentar rápida absorção e sensorial agradável e já vem pronta para uso (Almeida, Amaral & Lyra, 2014).

Sua formulação é constituída por: Miristato de isopropila, lecitina (soja), palmitato isopropílico, BHT (hidroxitolueno butilado), simeticone, ureia, sorbato de potássio, estearato de polioxil 40, EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético), álcool cetílico, álcool estearílico, monoestearato de glicerina, ácido sórbico, ácido benzoico, carbomero 940 e tampão com ácido clorídrico, todos esses compostos são reconhecidos pelo USFDA (Food and Drug Administration/Órgão governamental dos Estados Unidos da América responsável pela administração de alimentos e medicamentos) (Almeida, Amaral & Lyra, 2014).

É Contraindicado para pacientes que tenham sensibilidade a algum dos componentes da base. E é indicado manter armazenado e conservado em recipientes herméticos, ao abrigo de calor, luz e umidade. Segundo mecanismo de permeação transdérmicos o Pentravan® interrompe a bicamada lipídica do estrato córneo, facilitando a liberação transdérmica de fármacos sem danificá-la, como fazem alguns promotores de permeação, que agem dissolvendo a bicamada lipídica. Apresenta características organolépticas como: creme denso, amarelo, com leve odor de lecitina. Possui um sensorial não pegajoso, sem essência e sua coloração pode variar devido à presença da lecitina que é um produto de origem vegetal. (Site Fagron disponível em: <http://www.fagron.com.br>).

Para realizar uma nova formulação, é fundamental junção adequada de excipientes farmacêuticos, com a finalidade de emulsificar, conservar, colorir, flavorizar, diluir, solubilizar, estabilizar, garantindo fármacos eficazes, atraentes e estáveis. Cada formulação possui diversas características físicas, químicas, físico-químicas e biológicas (Ansel, Popovich & Junior, 2001 apud Martins, Cortez & Felipe, 2008).

O Controle de Qualidade de uma forma farmacêutica é o conjunto de atividades destinadas a verificar e assegurar características físicas, químicas e microbiológicas. É necessário que o produto não seja disponibilizado para o consumidor até que cumpra com o processo de qualidade preestabelecida. O Controle de Qualidade tem como finalidade a garantia da

qualidade, segurança e eficácia do produto e não somente como exigência regulatória. Além do controle de qualidade, o estudo da estabilidade é uma etapa essencial. O teste de estabilidade visa fornecer informações que vão indicar as características do produto desde a fabricação até o término da sua validade. Variáveis como luz, temperaturas extremas, umidade, condições de transporte e composição do produto pode afetar a estabilidade do produto. (Brasil, 2008).

Portanto, devido à propriedade cicatrizante do eugenol, sugerimos que ele possa atuar na prevenção ou tratamento de feridas de pacientes portadores de diabetes.

Logo, este trabalho teve como objetivo buscar novas possibilidades terapêuticas, propondo a incorporação do eugenol em uma base transdérmica, o Pentravan®, considerando seu potencial de permeabilidade. Sendo uma nova formulação farmacêutica, foram realizados testes de controle de qualidade e estabilidade físico-químicas.

Materiais e métodos

Incorporação eugenol e Pentravan®

A incorporação foi realizada na Universidade Vale do Rio Doce - UNIVALE, no laboratório de Farmacognosia/Farmacotécnica no bloco D6, utilizou-se eugenol (Sigma Farma) e o Pentravan® (Fagron).

Para realizar a formulação do creme, foram feitos três lotes, onde incorporou-se o eugenol na base transdérmica Pentravan®. A concentração utilizada do eugenol correspondeu a 2% da formulação (Martins, Cortez & Felipe, 2008). Pesou-se na balança analítica 193g de Pentravan® para o Lote I, 190g para o Lote II e 160g para o Lote III. No Lote I pipetou-se 3,85ml de eugenol, Lote II 3,80ml e Lote III 3,2ml.

A base pesada foi dividida em duas partes iguais para uma melhor homogeneização. Em um gral de vidro colocou-se a primeira parte, adicionou-se a quantidade total de eugenol pipetado, homogeneizou-se, completou-se com a base e homogeneizou-se novamente. Logo após a incorporação, transferiu-se o creme do gral para um saco plástico, a fim de facilitar o envase em dois potes de polietileno com a mesma quantidade. Rotulou-se os potes, colocando o nome da formulação, concentração, data de fabricação, data de validade, número do lote, quantidade em gramas, nome da universidade e componentes do grupo.

Os testes de centrifugação, estabilidade preliminar, pH, condutividade elétrica, estabilidade acelerada, análise reológica e índice de refração foram realizados

nos laboratórios de Farmacognosia/Farmacotécnica da Universidade Vale do Rio Doce – UNIVALE – Bloco D6 e no Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Juiz de Fora – UFJF Campus Governador Valadares - Bloco F10.

Centrifugação

A centrifugação aumenta a velocidade de estresse na amostra, reproduzindo o aumento na força de gravidade, aumentando a locomobilidade das partículas e adiantando possíveis sinais de instabilidade, por exemplo, a separação de fases, formação de sedimento compacto e coalescência e a precipitação. Antes da realização dos testes de estabilidade preliminar a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) preconiza que o produto seja submetido à centrifugação, por um período de 30 minutos e com uma velocidade de 3000 rpm, realizado em triplicata. Caso ocorra algum indício de instabilidade, deve-se reformular a amostra, e para aquelas consideradas estáveis podem prosseguir para os Testes de Estabilidade Preliminar (Brasil, 2007 apud Isaac et al, 2008).

Pesou-se 5g do produto a ser analisado em um tubo de ensaio plástico e colocado na centrífuga (Excelsa II Modelo 206 BL) e foram submetidos a rotações crescentes de 1000, 1800 e 3000 rpm, durante 15 minutos para cada rotação em temperatura ambiente. Esse procedimento foi realizado nos três lotes manipulados (Idson, 1988; 1993a; 1993b; Rieger, 1996 apud Isaac et al, 2008).

Estabilidade preliminar

Este teste tem como objetivo sujeitar o produto a temperaturas elevadas e efetuar os ensaios em relação aos diversos critérios de acordo com a amostra estudada. O teste de estabilidade preliminar teve duração de 24 horas, sendo a primeira avaliação realizada 24 horas após a manipulação, para que a amostra obtenha viscosidade e consistência final. Foram analisados parâmetros como: cor, pH, condutividade elétrica, aspecto, odor, viscosidade e realizado a média aritmética dos resultados adquiridos dos testes feitos em triplicata para os três lotes manipulados (Isaac et al, 2008).

Cor

A cor foi analisada sob condições de luz branca, onde se colocou aproximadamente 5g da amostra em placa de petri identificada com os diferentes lotes. A amostra é especificada em relação à cor em: levemente modificada; modificada; intensamente modificada; normal; sem alteração (Isaac et al, 2008).

pH

A definição do pH foi realizada em uma dispersão aquosa na proporção 10% (p/p) da amostra ensaiada em água destilada, utilizou-se pHmetro digital (Mettler Toledo-Seven Compact pH/Ion), onde inseriu-se o eletrodo diretamente na amostra, feito a leitura, obteve-se o resultado (Brasil, 2004).

Condutividade elétrica

A definição da condutividade foi realizada em uma dispersão aquosa na proporção 10% (p/p) da amostra ensaiada em água destilada, utilizou-se o aparelho (Mettler Toledo-Seven Compact Conductivity), onde se inseriu o eletrodo diretamente na amostra, feito a leitura, obteve-se o resultado. Fez-se uma adaptação de acordo com o teste de pH realizado (Brasil, 2004).

Aspecto

As análises do produto foram realizadas com a finalidade de avaliar as características macroscópicas para pesquisar possíveis sinais de instabilidade. A estabilidade do produto em análise é dada pela não ocorrência de precipitação, separação de fases e de turvação. O aspecto de uma amostra pode ser relatado como pasta, gel, viscoso, volátil, transparente, leitoso e opaco, homogêneo, heterogêneo, fluido, granulado, pó úmido, pó seco e cristalino. E também pode ser descrita como levemente separada, precipitada, turva; normal, sem alteração; separada (Isaac et al, 2008). As características dos aspectos foram analisadas de forma visual.

Odor

O odor do produto manipulado foi realizado diretamente através do olfato. Classifica-se o odor da amostra em: normal, sem alteração; levemente modificado; modificado; intensamente modificado (Isaac et al, 2008).

Estabilidade acelerada

O teste fornece informações para prever o tempo de vida útil, a estabilidade do produto e coerência da formulação com o material acondicionado. Utiliza condições não extremas e auxilia na determinação da estabilidade da formulação. É um ensaio onde é possível prever a data de validade do produto, mas pode ser usado ainda quando houver alterações no processo de fabricação ou na composição, para legalizar equipamentos ou na embalagem primária, e também na hipótese de fabricação terceirizada (Brasil, 2004).

Para a realização do ensaio de estabilidade acelerada em pequeno prazo, foi executado por um período

do de 28 dias, onde foram analisadas características organolépticas tais como, odor, aparência, cor, firmeza, integridade do produto nos tempos de 7, 14, 21 e 28 dias, nas condições de temperatura ambiente (aproximadamente 30°C ± 2°C) e em câmara climática (Nova Ética) (40°C). O teste foi realizado em triplicata para os três lotes manipulados (Beltrami et al, 2008).

Análise reológica

A reologia enquadra-se na física abrangendo as propriedades físico-elásticas dos materiais, associados a alterações na forma e no fluxo do material, destacando-se plasticidade, viscosidade, elasticidade, assim como escoamento da matéria. As amostras foram avaliadas no Reômetro (proRheo R180), utilizando sonda de leitura número 3 e banho ultratermostatizado à 30°C, o compartimento onde foi introduzido a sonda tem capacidade de aproximadamente 25 a 30g, onde colocou-se amostra em teste. O aparelho foi programado para realizar rotações de 100 – 1000 s⁻¹ e de 1000 – 100 s⁻¹. As análises foram realizadas em triplicata para cada lote manipulado para obter-se melhor exatidão nos resultados (Filho et al, 2010).

Espalhabilidade

A espalhabilidade da amostra é determinada de acordo com a leitura dos diâmetros compreendidos pela amostra (Isaac, 1998a; Knorst & Borghetti, 2006 apud Isaac et al, 2008).

Para realização do teste foi utilizado três folhas de papel milimetrado onde foi traçados o formato de uma lâmina de vidro usado para microscopia. Em seguida, foram traçados as diagonais do retângulo formado com o objetivo de apresentar o ponto central. Pesou-se em balança semi-analítica aproximadamente 25mg da amostra no centro da lâmina de vidro, que logo foi posicionada sobre o desenho feito na folha de papel milimetrado. Sobre a primeira lâmina com a amostra colocou-se suavemente outra de peso determinado 5,1g, e aguardou-se 1 minuto para medir o raio do círculo formado. O teste foi realizado em intervalos de 1 minuto, onde a cada intervalo foi-se adicionando pesos pré-determinados (2g, 2g e 5g) e sempre medindo o raio (TABELA 1). O teste foi realizado em temperatura ambiente e em triplicata para cada lote manipulado. Nos raios obtidos foram calculadas as áreas das superfícies correspondentes, utilizando a fórmula de cálculo para área do círculo ($\text{área} = \pi R^2$, onde $\pi = 3,14$ e $R =$ raio do círculo) (Fernandez-montes, 2005 apud Souza, 2007).

Índice de refração

A definição do índice de refração foi feito em triplicata nos três lotes manipulados por análise direta do produto final no equipamento (Digital Refractometer), colocou-se a amostra sobre o prisma opaco do equipamento, em seguida foi feito a leitura do índice de refração na escala do aparelho (USP 27 apud Souza, 2007).

Resultados

Centrifugação

Nos três lotes manipulados realizados em triplicata, foi analisado a cada rotação e tempo determinado se obteve separação de fases na amostra. Ao final do teste observou-se que em nenhuma amostra houve separação de fases.

Estabilidade preliminar

O teste realizado após 24 horas sob luz branca apresentou uma cor levemente modificada, pH de 5,15; 5,16; 5,17 e condutividade elétrica de 463 $\mu\text{S/cm}$; 470 $\mu\text{S/cm}$; 465 $\mu\text{S/cm}$ para os lotes I, II e III respectivamente. Apresentando média de pH 5,16 e condutividade 466 $\mu\text{S/cm}$. (TABELA 2).

Após a manipulação de cada lote realizou-se em temperatura ambiente a medição do pH e da condutividade elétrica em triplicata. A média do pH foi de 5,18 e da condutividade elétrica foi 496 $\mu\text{S/cm}$. (TABELA 3). Além disso, observou-se os seguintes aspectos dos quais a formulação era: viscosa, leitosa, homogênea, normal; sem alteração e odor intensamente modificado devido a presença de eugenol na formulação, para os lotes I, II e III. (TABELA 3).

Estabilidade acelerada

As amostras manipuladas foram submetidas a temperaturas específicas, onde foram observadas as características das amostras nos tempo de 7, 14, 21 e 28 dias. No decorrer dos dias observou-se o aparecimento de bolhas, cheiro característico de cravo, alteração da cor do creme, separação de fases entre a base e o eugenol, evaporação do eugenol. (TABELA 4).

Análise reológica

Nos testes realizados em triplicata nos três lotes manipulados analisou-se a tensão de cisalhamento e viscosidade. Utilizou-se Modelo de Ostwald de Waa-le, pois mostrou melhor número de fluidos não-Newtonianos que apresentou comportamento de potência, num largo espaço de velocidade de cisalhamento.

Para a realização do teste fez-se a média das três amostras de cada lote e em seguida com os resultados obtidos fez-se a média dos valores finais dos lotes I, II e III. Observou-se que a média dos lotes tanto para viscosidade como para tensão de cisalhamento estão condizendo uma com a outra, visto que os pontos vermelhos dos gráficos estão de forma ascendente e os pontos azuis de forma descendente. (FIGURA 1).

Espalhabilidade

O perfil de espalhabilidade das amostras foi realizado em triplicata para os três lotes onde se fez a média dos raios e a média da área em milímetros dos lotes I, II e III, com o desvio padrão. (TABELA 5).

Índice de refração

O teste foi realizado em temperatura ambiente considerando os três lotes manipulados em triplicata. Fez-se a média dos resultados obtidos e pode-se analisar que nos três lotes não houve diferença significativa. (TABELA 6).

Tabela 1. Etapas do processo para realizar o teste de espalhabilidade e pesos utilizados no teste adicionado em cima das amostras.

Étapas	Pesos
1 ^a	Lâmina de vidro + amostra (25mg)
2 ^a	Lâmina de vidro + amostra (25mg) + Lâmina de vidro
3 ^a	Lâmina de vidro + amostra (25mg) + Lâmina de vidro + peso (2g)
4 ^a	Lâmina de vidro + amostra (25mg) + Lâmina de vidro + peso (2g) + peso (2g)
5 ^a	Lâmina de vidro + amostra (25mg) + Lâmina de vidro + peso (2g) + peso (2g) + peso (5g)

Tabela 2. Estabilidade preliminar: cor, pH e condutividade elétrica após 24 horas sob exposição a luz branca

Lotes	Parâmetros da cor	pH	Condutividade elétrica
Lote I	Levemente modificada	5,15	463µS/cm
Lote II	Levemente modificada	5,16	470µS/cm
Lote III	Levemente modificada	5,17	465µS/cm
Média pH e condutividade elétrica dos Lotes I, II e III		X	466 µS/cm

X= não se aplica.

Tabela 3. Estabilidade Preliminar: pH, condutividade elétrica, aspecto e odor dos Lotes I, II e III

Lotes	pH	Condutividade elétrica	Aspecto	Odor
Lote I	5,19	471µS/cm	Viscoso Leitoso Homogêneo Normal; sem alteração	Intensamente modificado*
	5,18	488µS/cm		
	5,17	460µS/cm		
Lote II	5,19	531µS/cm	Viscoso Leitoso Homogêneo Normal; sem alteração	Intensamente modificado*
	5,19	511µS/cm		
	5,15	527µS/cm		
Lote III	5,20	495µS/cm	Viscoso Leitoso Homogêneo Normal; sem alteração	Intensamente modificado*
	5,15	494µS/cm		
	5,19	491µS/cm		
Média pH e condutividade elétrica dos Lotes I, II e III	5,18	496µS/cm		

*= Devido ao cheiro forte e característico do eugenol.

Tabela 4. Características da formulação no teste de estabilidade acelerada dos lotes I, II e III, nos tempos de 7, 14, 21 e 28 dias

Tempo e características	Estufa (40°C)	Temperatura ambiente (30°C)
7 dias		
Cheiro característico de cravo	+++	+++
Eugenol evaporou	----	----
Eugenol separou do Pentravan®	+	+
Alteração da cor do Pentravan®	++	++
Pentravan® derreteu	++	+
Bolhas na superfície do Pentravan®	+++	+
14 dias		
Cheiro característico de cravo	+++	+++
Eugenol evaporou	+	+
Eugenol separou do Pentravan®	+++	+++
Alteração da cor do Pentravan®	++	+++
Pentravan® derreteu	+++	+
Bolhas na superfície do Pentravan®	+++	+++
21 dias		
Cheiro característico de cravo	++	+++
Eugenol evaporou	++	+++
Eugenol separou do Pentravan®	+++	+++
Alteração da cor do Pentravan®	++	+++
Pentravan® derreteu	+++	+
Bolhas na superfície do Pentravan®	+++	+++
28 dias		
Cheiro característico de cravo	+	+++
Eugenol evaporou	+++	++
Eugenol separou do Pentravan®	+++	+++
Alteração da cor do Pentravan®	++	+++
Pentravan® derreteu	+++	+
Bolhas na superfície do Pentravan®	+++	+++

---- = Nada consta, + = pouco, ++ = médio, +++ = muito.

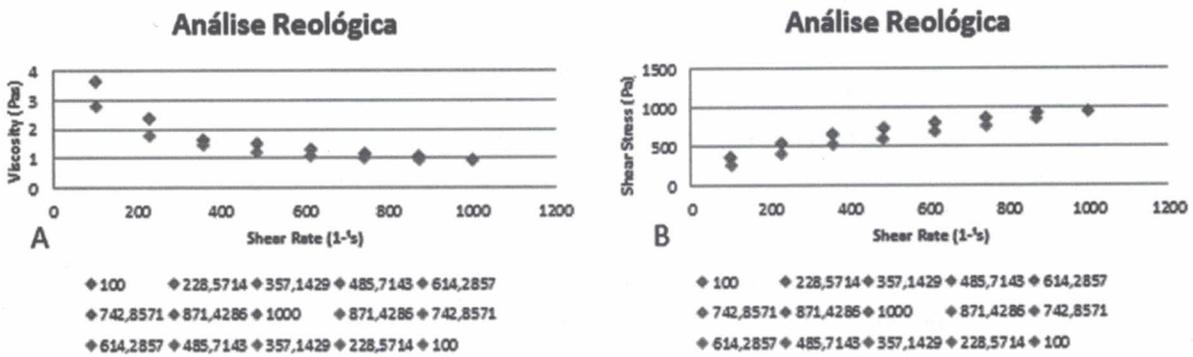
Tabela 5. Média dos raios, das áreas calculadas e desvio padrão da espalhabilidade dos Lotes I, II e III

Pesos	Média do raio (mm) Lote I	Média do raio (mm) Lote II	Média do raio (mm) Lote III	Média da área (mm ²) Lotes I, II e III	Desvio Padrão da média da área Lotes I, II e III
Lâmina sobre a amostra	13	13	14	142,42	± 19,38
Lâmina sobre a amostra + 2g	14	15	16	171,78	±15,37
Lâmina sobre a amostra + 2g + 2g	16	16	17	207,43	±27,43
Lâmina sobre a amostra + 2g + 2g + 5g	18	18	18	251,98	±29,23

Tabela 6. Medição do índice de refração do produto pronto

Lotes	Índice de Refração	Média dos Lotes
Lote I	1.388 ₀ 1.382 ₄ 1.385 ₂	1.385 ₂
Lote II	1.388 ₁ 1.386 ₅ 1.389 ₄	1.388 ₃
Lote III	1.383 ₀ 1.386 ₄ 1.384 ₇	1.384 ₄
Média dos Lotes I, II e III		1.386 ₃

Figura 1. Análise reológica: Teste de viscosidade e taxa de cisalhamento de 100 a 1000 ⁻¹s e 1000 a 100 ⁻¹s.



(a) Análise reológica – os pontos em vermelho (curva ascendente) indicam a viscosidade na velocidade de 100 a 1000 ⁻¹s, os pontos em azul (curva descendente) indicam a viscosidade de 1000 a 100 ⁻¹s.

(b) Análise reológica – os pontos em vermelho (curva ascendente) indicam a taxa de cisalhamento (shear stress) na velocidade de 100 a 1000 ⁻¹s, os pontos em azul (curva descendente) indicam a taxa de cisalhamento de 1000 a 100 ⁻¹s. O teste foi realizado em triplicata e a média dos três lote para viscosidade e taxa de cisalhamento.

Discussão

Centrifugação

O teste tem por objetivo aumentar bruscamente a força da gravidade, conseqüentemente ocorre à estimulação do movimento das partículas, sendo possível observar a possibilidade de alguma instabilidade.

Através da centrifugação consegue-se avaliar a estabilidade física de emulsões, com a finalidade de acelerar o processo de separação de fases, que poderia acontecer com o decorrer do tempo. Mostrando, portanto, a instabilidade do produto, sugerindo que este seja reformulado. Quando desenvolvida cuidadosamente, a centrifugação estabelece um instrumento positivo na avaliação da estabilidade das emulsões (Rieger, 2001 apud Savian et al, 2001).

Montagner & Corrêa (2004) descreve que a definição da estabilidade de emulsões nem sempre podem ser analisadas através de técnicas sensíveis e rápidas. Logo, é imprescindível que se acelere a instabilidade sujeitando a formulação às circunstâncias de estresse como variação térmica, calor, exposição à luz.

Após a realização do teste observou-se que não ocorreu sinal de instabilidade física, como a separação de fases, sendo esta muito importante.

Estabilidade preliminar

Consiste em ensaios para avaliar as características do produto em condições distintas na fase inicial de sua produção. A condição que o produto foi submetido serve para agilizar possíveis reações entre seus componentes e o aparecimento de sinais. As características analisadas foram aspecto, cor, odor, pH e condutividade elétrica.

De acordo com os resultados obtidos pode-se analisar que a média da condutividade elétrica das amostras expostas sob a luz branca durante 24 horas foi inferior em comparação com a média das amostras em condições normais. As características como aspecto e odor permaneceram estáveis até o final da análise de acordo com os produtos utilizados, somente a cor da amostra apresentou leve alteração. Segundo Isaac et al (2008), a exibição à radiação luminosa pode modificar a cor do produto, levando a degradação de componentes da formulação. Já a média do pH sob luz branca (24 horas) e condições normais, apresentaram pouca diferença, mostrando que ambas estão com valores adequados à faixa de pH cutâneo que é entre 4,6 a 5,8 auxiliando na proteção antibacteriana e antifúngica (Pinto, Galego & Silva, 1997 apud Magalhães, Rosa & Bara, 2011).

Aulton (2005) descreve que a instabilidades em formulações são continuamente identificados apenas após admissíveis períodos de armazenamento em situações normais. Para indicar a estabilidade de um produto formulado, é normal colocá-lo a situações "extremas de estresse", ou seja, situações de temperatura, intensidade de luz e umidade que se conhece, de experimentos, que possivelmente podem causar a decomposição deste. Situações extremas de estresse elevam a deterioração da formulação e, portanto diminuem o tempo necessário para o teste, permitindo que mais dados sejam coletados em um curto período, visto que, permite que formulações não adequadas sejam eliminadas nas etapas iniciais de um estudo, diminuindo, assim, o tempo essencial para que um produto bem sucedido seja lançado no mercado. Deve-se destacar que as extrapolações às situações normais de armazenamento devem ser realizadas cuidadosamente. Aconselha-se, então realizar o ensaio simultaneamente de um lote em situações normais esperadas para comprovar, posteriormente, se essas suposições são válidas.

Segundo Morais et al (2005) os caracteres organolépticos, pH e separação de fase, tem a finalidade de garantir a estabilidade e particularidade das formulações, tendo como importante decorrência a aceitação do consumidor. Além do mais, a avaliação dos caracteres organolépticos também pode influenciar o consumidor, visto que sua aceitação é concebida pela aparência, espalhabilidade, sensação pelo contato inicial com a pele e resquício da oleosidade após a aplicação.

Estabilidade acelerada

As amostras dos três lotes submetidas em câmara climática apresentaram as mesmas características como, separação de fases (eugenol separou-se do creme base), aparecimento de bolhas, alteração da cor da base, aspecto e no decorrer dos dias uma parte do eugenol evaporou, e ficando um resíduo sólido com cheiro mais ameno de cravo. As amostras dos três lotes submetidas em temperatura ambiente também apresentaram as mesmas características como, separação de fases (eugenol separou-se do creme base), aparecimento de bolhas, alteração da cor da base, porém evaporou-se menos e, portanto manteve o cheiro de cravo característico.

Esse teste aumenta a velocidade do desgaste da formulação que possibilita selecionar a amostra com melhor perfil físico e físico-químico, logo este teste direciona qual veículo confere estabilidade adequada

para ensaios futuros. Emprega-se também na fase de evolução do produto usando-se lotes feitos em escala laboratorial. Serve também como adjunto para a indicação da estabilidade da formulação. Pode ser efetuado, ainda, quando ocorrer alternâncias relevantes em componentes da formulação e ou das etapas de fabricação, em material de acondicionamento que adentra em contato com o produto. As amostras podem ser sujeitadas a resfriamento em refrigeradores, aquecimento em estufas, exposição à radiação luminosa e ao ambiente (Brasil, 2004).

Análise reológica

Segundo Morais et al (2005) a avaliação das características reológicas de cremes e loções é de essencial importância.

De acordo com Tonzar (2006), as análises reológicas também podem servir na assistência no prognóstico das consequências da formulação e da conduta nas características do produto e na análise da sua estabilidade e qualidade. Sua definição é dada pelo estudo do fluxo e do modo como os materiais correspondem à aplicação de uma tensão ou força.

O teste que analisa a taxa de cisalhamento é juntamente com a curva de viscosidade em dois sentidos, indo da taxa mais baixa para a mais alta e vice versa é chamado de tixotropia, a consistência de um material se dá pela disposição das suas moléculas e partículas que são estabelecidas através de interações intermoleculares entre si. Quando esse material é cisalhado a orientação ou a disposição das moléculas e partículas é mudada, a estrutura se quebra e a viscosidade do sistema diminui o que é ilustrado pela curva em vermelho (Figura 1). Quando a força do cisalhamento é removida/reduzida às condições iniciais com as interações intermoleculares que dão consistência ao produto são reestabelecidas em um período de tempo, a estrutura reestabelece e a viscosidade retorna ao seu valor inicial. O reestabelecimento do sistema do creme Pentravan® e eugenol foram lentos, por isso a curva em azul está abaixo da curva em vermelho (Figura 1). Isto é ilustrado no estudo feito por Silva & Pereira (2000).

Segundo Morais, Santos & Masson (2005), os produtos tixotrópicos quando sujeitados a uma pressão externa tornam-se mais fluidos, podendo se espalhar de forma mais fácil no local onde são aplicados, recuperando a viscosidade inicial no instante em que finaliza a aplicação, não permitindo que o escoamento do produto ocorra durante o procedimento, assim, entende-se que a tixotropia é uma característica essencial para os produtos tópicos. A principal característica

do fluxo não-newtoniano é a redução da viscosidade com a elevação da velocidade de cisalhamento. Esse tipo de conduta para um produto de uso tópico é desejável, permitindo assim a facilidade de espalhamento da formulação sobre a pele. O comportamento não-newtoniano é próprio para produtos de aplicação tópica, onde, após o cisalhamento, a resistência inicial para a emulsão fluir reduza, facilitando a aplicação. A redução da viscosidade com cisalhamento indica tixotropia aparente.

Espalhabilidade

Este teste teve como objetivo analisar a espalhabilidade das amostras após serem manipuladas. Levando em consideração o estudo de Souza (2007), que utilizou uma base não iônica onde a média do raio foi 107,57; 139,73; 139,73 e 184,73 para os pesos 5,1; 7,1; 9,1 e 14,1 respectivamente. A base utilizada no presente estudo possibilitou a comparação por também ser não iônica, onde foi possível observar que a formulação desse estudo teve uma espalhabilidade melhor.

Os dados relativos à espalhabilidade são essenciais, pois se o creme produzido possuir boas características, ele poderá ser utilizado de forma mais agradável no ato de sua aplicação sobre a pele e em mínimas quantidades, levando a uma diminuição do consumo dessa formulação com a mesma eficácia terapêutica.

Segundo Martins, Cortez & Felipe (2008), a espalhabilidade está minuciosamente associada com a aplicação da formulação no sítio de ação e se caracteriza pela fluidez da formulação adquirida, proporcionando analisar o seu desempenho e sua aceitação pelo consumidor. Também de acordo com Friedrich et al (2007), a determinação do teste de espalhabilidade constitui significativamente para a avaliação da estabilidade de formulações, devido a mudanças na consistência dos produtos.

Índice de refração

Pelo fato da formulação do presente estudo ser nova, fez-se a comparação entre os resultados obtidos dos três lotes feitos em triplicata, apresentando valores bastante aproximados, onde o índice de refração do Pentravan® com o eugenol está dentro da média obtida 1.3863. O índice de refração serve para indicar a concentração do eugenol dentro da base que é o Pentravan®.

Conforme o estudo de Serafim et al (2013), o índice de refração serviu como um importante parâmetro para ditar a quantidade acumulada de glicerina permeada com amostras contendo Articulatio Stan-

num. Cujo, realizaram os testes em triplicata e obtiveram valores da concentração de glicerina nas amostras.

Conclusão

O estudo vem para destacar a importância da criação de novos medicamentos a base de plantas medicinais e de uma área de grande importância da atuação farmacêutica que é a farmacotécnica. O processo realizado no trabalho veio para aprimorar a base de conhecimentos no controle de qualidade físico-químico e farmacotécnica, além de salientar a importância de pesquisas. A formulação deve passar por vários testes antes de ser aplicada em pacientes, pois a segurança e eficácia deste produto devem ser testadas, os testes físico-químicos realizados são uma amostra de um dos processos que ele deve passar. Os testes microbiológicos também devem ser realizados o que torna uma nova etapa deste trabalho, antes dos ensaios pré-clínicos em animais. O medicamento em questão tem a proposta de contribuir no processo de prevenção e cicatrização de feridas diabéticas, isso é possível pelas propriedades farmacológicas já comprovadas do eugenol (óleo essencial extraído do cravo-da-índia), como antidiabética, cicatrizante, antibacteriana e antifúngica, já que a doença é uma síndrome metabólica, de grande problema da saúde pública, que compromete a circulação sanguínea e nervos o que pode levar a lesões com difícil cicatrização, portanto a criação de novos medicamentos e seus processos durante a execução do estudo colabora com o aprimoramento dos conhecimentos dos participantes, em relação às disciplinas interligadas, na busca de novos fármacos que venham a contribuir com a diabetes, tendo como objetivo melhorar a qualidade de vida destes pacientes.

Referências Bibliográficas

- Afonso SR, Rennó NM, Slana ACBG, Franca TCC. Aspectos químicos e biológicos do óleo essencial de cravo-da-índia. *Rev. Virt. de Quím.* 2012,Abr;4(2):146-161.
- Almeida KAA, Amaral TA, Lyra TP. **Uso potencial do pentravan para veiculação de eugenol por via transdérmica.** 2014. Pindamonhangaba. 37 p. **Monografia** (Graduação em Farmácia), Faculdade de Pindamonhangaba. São Paulo.
- Alves C, Andion J, Brandão M, Menezes R. Mecanismos patogênicos da doença periodontal associada ao diabetes melito. *Arq. Bras. Endocrinol Metab* vol.51 No.7 São Paulo Oct. 2007.
- Ansel CH, Popovich GN, Allen J. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 6. ed. Baltimore: Premier, 2001. *Apud* Martins MR, Cortez REL, Felipe FD. Desenvolvimento de formulações de uso tópico empregando o óleo essencial extraído do cravo-da-índia. *Rev. Saúde e Pesquisa*, v. 1, n. 3, p. 259-263, set./dez. 2008.
- Aulton EM. **Delineamento de Formas Farmacêuticas.** 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 677 p. 2005.
- Beltrami MC, Basso R, Silva MAS, Cardoso S, Stulzer HK. Estudos de estabilidade acelerada de emulsões manipulados contendo o antiviral aciclovir. **Visão acadêmica**, Curitiba, v.9, No 2. Jul-Dez – 2008.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos. Brasília, 2007. *Apud* Isaac BLV, Cefali CL, Chiari GB, Oliveira GLCC, Salgado NRH, Corrêa MA. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Gerência Geral de cosméticos. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília, 2004.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Guia de controle de qualidade de produtos cosméticos.** Brasília. 2008.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de estabilidade de produtos cosméticos.** Brasília, 45p, 2004.
- Brown PD & Morra MJ. Glucosinolatecontaining plant tissues as bioherbicides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43:3070-3074, 1995, Brown PD, Morra MJ, Mccaffrey JP, Auld DL & Williams III L. 1991. Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. *Journal of Chemical Ecology* 17:2021-2034. Ortiz EL. *The Encyclopedia of Herbs, Spices, and Flavourings.* Dorling Kindersley Publishers, London, 1992. *Apud* Mazzafera P. Efeito alelopático do extrato alcoólico do cravo-da-índia e eugenol. **Rev. Brasil. Bot.**, V.26, n.2, p.231-238, jun. 2003.
- Cotran SR, Kumar V, Robbins SL. Pâncreas. In _____. *Patologia básica.* 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1994. Cap. 17. *Apud* Lucena JBS. Diabetes Mellitus Tipo 1 e tipo 2. 2007. São Paulo. 74 p. **Trabalho de conclusão de curso de Farmácia.** Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas. São Paulo.
- Edris AE. Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review. **Phytotherapy Research**, v. 21, No. 4, 308-23, Apr. 2007.

Fagron Pentravan informe técnico. Disponível em: <<http://www.fagron.com.br/Literaturas/LITERATURAS%20FARMACEUTICAS%5CP%5CPENTRAVAN.pdf>>

Fagron Pentravan material técnico do fornecedor. Disponível em: <<http://www.fagron.com.br>>

Fernandes-Montes AE. Técnicas y procedimientos en formulación magistral dermatológica. Madrid: E. Alía, 2005. 341p. *Apud* Souza CLF. Desenvolvimento de bases emulsionadas de silicone e água e avaliação comparativa com bases emulsionadas de óleo e água para uso externo de uso mais comum em manipulação. 2007. Rio de Janeiro. 191 p. **Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.**

Ferreira SRG & Vannucci MG. Noções de diabetes mellitus para o não especialista. In: Brunette CM. **Periodontia Médica: Uma abordagem integrada.** São Paulo: Editora Senac, 2004. pp. 150-70. *Apud* Alves C, Andion J, Brandão M, Menezes R. Mecanismos patogênicos da doença periodontal associada ao diabetes melito. **Arq Bras Endocrinol Metab** vol.51 No.7 São Paulo Oct. 2007.

Filho VBF, Santos CAC, Santana JM, Neto PPC, Souza WL, Abreu LB, Silva FV. Estudo reológico de óleo vegetal, glicerina e biodiesel para caracterização entre os fluidos não-newtonianos. **VI Congresso Nacional de Engenharia Mecânica (CONEM).** Campina Grande. Paraíba. Agosto de 2010.

Friedrich M, Primo FT, Funck JAB, Laporta LV, Alves MP, Bittencourt CF, Escarrone VLA. Avaliação da estabilidade físico-química de creme não iônico inscrito no formulário nacional. **Latin American Journal of Pharmacy.** Lat. Am. J. Pharm. 26 (4): 558-62, 2007.

Guyton AC & Hall JE. Insulina, glucagon e diabetes mellitus. In: _____. Tratado de fisiologia médica. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2002. p. 827-840. *Apud* Lucena JBS. Diabetes Mellitus Tipo 1 e tipo 2. 2007. São Paulo. 74 p. **Trabalho de conclusão de curso de Farmácia. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas.** São Paulo.

Idson B. Stability testing of emulsions. *Drug Cosmet Ind* 1988; 103(12):35-8. *Apud* Isaac BLV, Cefali CL, Chiari GB, Oliveira GLCC, Salgado NRH, Corrêa AM. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

Idson B. Stability testing of emulsions. I. *Drug Cosmet Ind* 1993a; 142(1):27-8. *Apud* Isaac BLV, Cefali CL, Chiari GB, Oliveira GLCC, Salgado NRH, Corrêa AM. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

Idson B. Stability testing of emulsions. II. *Drug Cosmet Ind* 1993b; 142(2):38-43. *Apud* Isaac BLV, Cefali CL, Chiari GB, Oliveira GLCC, Salgado NRH, Corrêa AM. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

Isaac BLV, Cefali CL, Chiari GB, Oliveira GLCC, Salgado NRH, Corrêa AM. Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v. 29, n.1, p. 81-96, 2008.

Kalia YN & Guy RH. Modeling transdermal drug release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 48: 159-172, 2001. *Apud* Sawamura AMS & Franco SL. Sistemas terapêuticos transdérmicos. **Arq. Apadec**, 8(1): 40-47, 2004.

Kong X, Liu X, Li J, Yang Y. Advances in Pharmacological Research of Eugenol. **Curr Opin Complement Alternat Med** 1:1, 8-11; January/February, 2014.

Lopes PS. Substâncias Naturais auxiliam na absorção de fármacos. Agosto 2000. *Apud* Sawamura AMS & Franco SL. **Sistemas terapêuticos transdérmicos.** Arq. Apadec, 8(1): 40-47, 2004.

Lucinda RM & Evangelista RC. Sistemas transdérmicos para veiculação de fármacos. *Infarma*, 10(1/6): 54-57, 1999. *Apud* Sawamura AMS & Franco SL. **Sistemas terapêuticos transdérmicos.** Arq. Apadec, 8(1): 40-47, 2004.

Maciel MAM, Pinto AC, Júnior VFV, Grynberg FN, Echevarria A. **Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares.** *Quim. Nova*, Vol. 25, No. 3, 429-438, 2002.

Martins RM, Cortez LER, Felipe DF. Desenvolvimento de formulações de uso tópico empregando o óleo essencial extraído do cravo-da-índia. **Rev. Saúde e Pesquisa**, v. 1, n. 3, p. 259-263, set./dez. 2008.

Melendres JL. In vivo percutaneous absorption of hydrocortisone: multiple applications dosing in man. *Pharm. Res.*, 9: 1164, 1992. *Apud* Sawamura AMS & Franco SL. **Sistemas terapêuticos transdérmicos.** Arq. Apadec, 8(1): 40-47, 2004.

Montagner D, Correia MG. Avaliação da estabilidade de cremes com uréia em diferentes pHs. **Rev. Bras. Farm.**, 85 (3): 69-72, 2004.

Morais GG, Santos HOD, Masson SD. Development of O/W emulsions with annatto oil (Bixa orellana) containing liquid crystal. *J Dispers. Sci Techn*, 26: 591-6, 2005.

Nothen RM. Adesivos transdérmicos. Disponível: <<http://www.studioxera.hpg.ig.com.br/adhsivostransdermicos.htm>>. Outubro 2001. Acesso em: 27/01/02. *Apud* Sawamura SMA & Franco LS. **Sistemas terapêuticos transdérmicos.** Arq. Apadec, 8(1): 40-47, 2004.

Ou HC, Chou FP, Lin TM, Yang CH, Sheu WHH. Protective effects of eugenol against oxidized LDL-induced cytotoxicity and adhesion molecule expression in endothelial cells. **Food and Chemical Toxicology**. Vol. 44, Issue 9, 1485 – 1495, September 2006.

Pinto P, Galego N & Silva N. Definição de critérios de avaliação dos efeitos sobre a superfície cutânea de cremes hidratantes: I – análise após uma aplicação. **Rev. Port. Farm.**;v.47, n.1, p.23-34. 1997. *Apud* Magalhães CJ, Rosa LA, Bara FTM. Desenvolvimento de uma formulação semi-sólida contendo extrato seco de *Symphytum officinale* L. (Confrei). Goiás. 7 p. **Semiário de Iniciação Científica**, Universidade Federal de Goiás. Goiás.

Raina KV, Srivastava KS, Aggarwal KK, Syamasundar VK, Kumar S. Essential oil composition of *Syzygium aromaticum* leaf from Little Andaman, India. **Flavour Fragrance Journal** 16:334-336, 2001.

Rieger MM. Emulsões. *In* Lachmann L.; Lieberman HA & Kanig JL. Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2, cap. 17, p. 855-906. *Apud* Savian AL, Varella FT, Athayde ML, Silva CB. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Rev. Bras. Farm.**, 91(2): 82-8, 2011.

Sanctis DS. Emulsão para uso externo. *Revista Racine*. São Paulo, v. 9, n. 53, p. 53-62, 1999. *Apud* Casteli VC, Mendonça CC, Campos MAL, Ferrari M, Machado SRP. Desenvolvimento e estudo de estabilidade preliminares de emulsões O/A contendo cetoconazol 2,0%. **Acta Sci. Health Sci**. Maringá, v. 30, n. 2, p. 121-128, 2008.

Savian AL, Varella FT, Athady ML, Silva CB. Desenvolvimento e avaliação preliminar da estabilidade de emulsão não-iônica O/A contendo óleo de café verde como potencializador de fator de proteção solar. **Rev. Bras. Farm.**, 91(2): 82-8, 2011.

Sawamura AMS & Franco SL. **Sistemas terapêuticos transdérmicos**. *Arq. Apadec*, 8(1): 40-47, 2004.

Scherer R, Wagner R, Duarte TCM, Godoy TH. Composição e atividades antioxidante e antimicrobiana dos óleos essenciais de cravo-da-índia, citronela e palmarosa. **Rev. Bras. Pl. Med**, Abr;11(4):442-449, 2009.

Shukri R, Mohamed S, Mustapha NM. *Food Chem*. 2010, 122, 1116 *Apud* Affonso SR, Rennó NM, Slana ACBG, França CCT. Aspectos Químicos e Biológicos do Óleo Essencial de Cravo da Índia. **Rev. Virtual Quim**. 4 (2), 146-161, 2012.

Silva MVS & Pereira RG. **Comportamento reológico de formulações para dentífricos**. Universidade Federal Fluminense, Departamento de Engenharia Mecânica. Rio de Janeiro. 2000.

Simões OMC. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. rev. e ampl. Porto Alegre, RS: UFSC, 2004.

Smeltzer SC & Bare BG. Histórico e tratamento de pacientes com diabetes mellitus. *In*: _____. Tratado de enfermagem médico-cirúrgica. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. Cap. 37. *Apud* Lucena LBS. Diabetes Mellitus Tipo 1 e tipo 2. 2007. São Paulo. 74 p. **Trabalho de conclusão de curso de Farmácia**. Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas. São Paulo.

Souza FLC. Desenvolvimento de bases emulsionadas de silicone e água e avaliação comparativa com bases emulsionadas de óleo e água para uso externo de uso mais comum em manipulação. 2007. Rio de Janeiro. 191 p. **Dissertação** (Mestre em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

Tangerino LMB. Estudo das propriedades antimicrobianas de copolímeros derivados do eugenol. 2006. Itajubá. 172 p. **Dissertação** (Pós-graduação em Materiais para Engenharia), Universidade Federal de Itajubá. Minas Gerais.

Tonzar CA. Medições de viscosidade e reologia em cosméticos. **Cosmet Toilet**. 18: 56, 2006.

Yunes RA, Pedrosa RC, Filho VC. Fármacos e Fito-terápicos: **A necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil**. *Quim. Nova*, Vol. 24, No. 1, 147-152, 2001.