

Efeito da Força e da Velocidade de Compressão sobre as Propriedades de Comprimidos contendo alta Concentração de Extrato Seco Vegetal.

Luiz Alberto Lira SOARES ^{1*}, Peter Christian SCHMIDT ²
George GONZÁLEZ ORTEGA ³ e Pedro Ros PETROVICK ³

¹ PPGCF - Departamento de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Avenida General Cordeiro de Farias s/n, 59010-180, Natal, RN, Brasil.

² Department of Pharmaceutical Technology - University of Tübingen Auf der Morgenstelle 8, 5.
Ebene, 72076, Tübingen, Germany.

³ PPGCF - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Avenida Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi a preparação de comprimidos contendo alta concentração de extrato de *Maytenus ilicifolia* seco por aspersão. Os comprimidos foram produzidos por compressão direta, empregando celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal e estearato de magnésio como adjuvantes. As influências da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de dureza, tempo de desintegração e friabilidade foram avaliadas através de metodologia de superfície de resposta. Modelos matemáticos foram ajustados aos dados experimentais e validados. Enquanto as propriedades mecânicas dos comprimidos tais como dureza e friabilidade foram sensíveis apenas à força aplicada, o tempo de desintegração foi influenciado por ambas variáveis independentes.

SUMMARY. "Effect of Compression Force and Tablet Press Speed on the Properties of Tablets containing High-dose of Spray Dried Plant Extracts". The aim of this work was to obtain tablets containing high-dose of spray-dried extracts from *Maytenus ilicifolia*. The tablets were prepared by direct compression and cellulose microcrystalline, colloidal silicon dioxide and magnesium stearate were used as excipients. The influence of compression force and machine speed on the tablets hardness, disintegration time and friability were studied by response surface methodology. Mathematical models were fitted to experimental data and validated. It could be observed that the tablet mechanical properties such as hardness and friability were influenced only by compression force, while the disintegration time was affected by both independent variables.

INTRODUÇÃO

Os extratos vegetais secos por aspersão tem sido utilizados como produtos intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas ¹⁻⁶. Entretanto, seu emprego no desenvolvimento e na produção de comprimidos tem se apresentado como uma tarefa complexa, pois muitos destes extratos não apresentam as propriedades satisfatórias de reologia e de compressibilidade, que permitam o processo de manufatura ^{7,8}. Além das propriedades relacionadas aos componentes da formulação do comprimido, o processo de compressão propriamente dito apresenta variáveis capazes de causar alterações importantes sobre as propriedades dos comprimidos ⁹. Tal fenômeno ganha importância, especialmente, na passagem de escala de produção ou no

emprego de máquinas de comprimir rotativas, as quais operam em maiores velocidades que as alternativas.

Até recentemente a investigação e desenvolvimento de novas formulações e/ou processos eram realizados pela técnica de tentativa e erro, e, com avaliação de apenas um fator por vez. Esta forma de abordagem é reconhecidamente dispendiosa considerando o custo e o tempo necessários para sua execução. Além disso, a ausência de uma análise estatística adequada pode facilmente conduzir a conclusões equivocadas, especialmente quando diferentes variáveis interagem ¹⁰⁻¹³. Neste contexto, a metodologia de superfície de resposta (MSR) tem sido empregada com sucesso para avaliar este tipo de desafio. Além de constituir um método

PALAVRAS-CHAVE: Compressão direta, *Maytenus ilicifolia*, Metodologia de Superfície de Resposta.

KEY WORDS: Direct Compression, *Maytenus ilicifolia*, Response Surface Methodology.

* Autor a quem dirigir a correspondência.

econômico que permite obter o máximo de informações com o mínimo de experimentos, a MSR permite ainda estabelecer qual(is) o(s) fator(es) exerce(m) maior ou menor influência sobre a variável de resposta estudada ^{5, 10-13}.

Assim, o objetivo deste trabalho foi utilizar a metodologia de superfície de resposta para avaliar a influência da força e da velocidade de compressão sobre as propriedades de dureza, tempo de desintegração e friabilidade de comprimidos contendo alto teor de extrato de *Maytenus ilicifolia* seco por aspersão.

MATERIAIS E MÉTODOS

Adjuvantes

Celulose microcristalina (Avicel[®] PH 101, FMC, USA); estearato de magnésio (Bärlocher, Alemanha); dióxido de silício coloidal (Aerosil[®] 200, Degussa, Alemanha). Os adjuvantes foram utilizados sem nenhum tratamento prévio.

Extrato seco vegetal

O extrato seco foi obtido por aspersão de infuso aquoso das folhas de *M. ilicifolia* na proporção 10:100 (planta:solvente) adicionado de 30% de dióxido de silício coloidal em relação ao teor de sólidos do extrato ¹⁴. A secagem foi conduzida em torre de secagem Production Minor[®] (GEA, Dinamarca) munida de aspersor rotatório. O material vegetal foi fornecido pelo Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas (CPQBA/UNICAMP).

Mistura

O extrato seco e a celulose microcristalina foram misturados na proporção ponderal 3,5:1 em misturador tipo Turbula modelo T2C (Willy A. Bachofen, Suíça) por 10 minutos. Em seguida foram adicionados à mistura o dióxido de silício coloidal (2,2%) e o estearato de magnésio (1,0%) e misturados por mais 5 minutos.

Compressão

Os comprimidos foram obtidos através da pesagem individual de 250 mg da mistura, transferidos diretamente para máquina de comprimir alternativa Korsch (Alemanha) modelo EK 0. Como ferramentas de compressão foram utilizados punções com superfície plana e lisa, de diâmetro de 10 mm e respectiva matriz. O punção superior foi instrumentado com quatro fitas de alongamento modelo 3/120 LY 11 (HBM, Alemanha) para medida da força de compressão. Como ponte de frequência foi empregado amplificador HBM (Alemanha) tipo K52 com dispo-

sitivo KWD 523D (HBM, Alemanha). Os dados foram apropriados em computador com auxílio do programa Messfix[®] v. 2.3 (Dr. R. Herzog, Tübingen, Alemanha).

Dureza

A resistência radial dos comprimidos foi determinada utilizando durômetro Erweka (Alemanha) modelo TBH-30. Os dados representam a média de seis determinações ¹⁵.

Tempo de desintegração

A desintegração dos comprimidos foi analisada utilizando aparelho PharmTest (Alemanha) modelo PTZ - 1, de acordo com o procedimento descrito na Farmacopéia Brasileira ¹⁵, sem discos. O meio de desintegração foi água destilada a 37 °C.

Friabilidade

A friabilidade foi avaliada em friabilômetro tipo roche, a 25 r.p.m. Para tanto, 20 comprimidos foram pesados e, após 5 minutos de rotação, os finos foram removidos e o percentual de massa perdido calculado ¹⁵.

Desenho experimental e análise estatística

Um desenho fatorial do tipo 2² sem réplicas foi adicionado de cinco pontos centrais e quatro pontos axiais ou estrelas (Figura 1), transformando-o num desenho composto central ¹⁰.

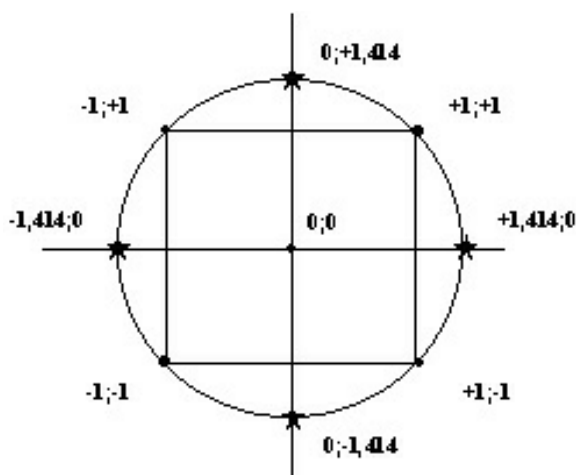


Figura 1. Representação esquemática do Desenho Composto Central.

As variáveis independentes do desenho experimental foram a força de compressão e a velocidade da máquina comprimir. As variáveis dependentes foram a dureza, o tempo de desintegração e a friabilidade dos comprimidos obti-

Experimento	Variáveis codificadas		Variáveis naturais	
	Velocidade	Força	Velocidade (rpm)	Força (kN)
1	-1	-1	20	5
2	-1	+1	20	15
3	+1	-1	30	5
4	+1	+1	30	15
5	0	0	25	10
6	0	0	25	10
7	0	0	25	10
8	0	0	25	10
9	0	0	25	10
10	- 1,414	0	17,93*	10
11	0	- 1,414	25	2,93*
12	+ 1,414	0	32,07*	10
13	0	+ 1,414	25	17,07*

Tabela 1. Matriz experimental do Desenho Composto Central com as variáveis naturais e codificadas.

* Em virtude de limitação técnica, os valores dos pontos estrelas foram arredondados.

ANOVA	r ²	Falta de ajuste	Validação
P < 0,05	r ² > 0,9	-	sim
P < 0,05	0,8 < r ² < 0,9	P > 0,05	sim
P < 0,05	0,8 < r ² < 0,9	P < 0,05	não
P < 0,05	r ² < 0,8	-	não
P < 0,05	-	-	não

Tabela 2. Critérios adotados para validação dos modelos matemáticos ¹¹.

dos. Para comparar o efeito das diferentes variáveis, os valores dos níveis do desenho experimental foram codificados (Tabela 1).

Para determinar a relação entre as variáveis independentes e as variáveis dependentes, um modelo matemático de segunda ordem foi testado. A equação geral proposta é dada abaixo:

$$Y = \beta_0 + \beta_1x + \beta_2y + \beta_{12}x.y + \beta_{11}(x)^2 + \beta_{22}(y)^2$$

Onde: Y corresponde, segundo o caso, à resposta de dureza, tempo de desintegração ou friabilidade, e $\beta_0 \dots \beta_{22}$ aos coeficientes da regressão.

A equação quadrática foi ajustada pelo método dos mínimos quadrados com auxílio do programa SigmaStat[®] versão 1.0 (Jandel Scientific) ⁵. A validação do modelo foi realizada através de ANOVA com auxílio do programa Excel[®] 7.0 (Microsoft), respeitando os critérios propostos por Wherlé ¹¹⁻¹³ (Tabela 2).

Para obtenção das superfícies de respostas e dos gráficos de isorrespostas, foi utilizado o programa SigmaPlot[®] versão 4.0 (Jandel Scientific).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos para a dureza, tempo de desintegração e friabilidade do desenho composto central encontram-se sumarizados na Tabela 3.

Dureza

Os dados de dureza (D) foram ajustados através de regressão linear empregando a

Experimento	velocidade (rpm)	força (kN)	dureza (N)	desintegração (min)	friabilidade (% m/m)
1	20	5	59,8	20,83	1,17
2	20	15	209,0	34,18	0,12
3	30	5	57,2	20,28	1,61
4	30	15	209,4	26,77	0,10
5	25	10	148,2	28,83	0,26
6	25	10	155,0	25,80	0,32
7	25	10	157,2	29,32	0,27
8	25	10	159,4	28,00	0,26
9	25	10	159,0	27,7	0,36
10	18	10	163,6	28,82	0,20
11	25	3	22,0	16,25	5,65
12	32	10	152,2	24,50	0,20
13	25	17	230,6	29,67	0,13

Tabela 3. Resultados para dureza, tempo de desintegração e friabilidade dos comprimidos obtidos.

equação geral. O modelo matemático que descreve o comportamento da variável estudada foi o seguinte:

$$D = -67,7375 + 1,184417V + 27,91165F + 0,030027VF - 0,03887(V)^2 - 0,68382(F)^2$$

Onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores V e F.

As análises estatísticas para resposta de dureza estão contidas na Tabela 4 (ANOVA) e na Tabela 5 (teste-t para os coeficientes da equação). O coeficiente de regressão múltipla calculado r^2 demonstrou que cerca de 99% da variância experimental pode ser explicada pelo modelo de segunda ordem proposto ($r^2 = 0,9951$). Em virtude da replicação do ponto central (cinco replicações), a soma dos quadrados total pôde ser particionada em dois outros componentes, soma dos quadrados do resíduo ou erro puro e soma dos quadrados da regressão ou falta de ajuste. O teste de falta de ajuste avalia a adequação do modelo matemático ao fenômeno em estudo. Com um resultado não significativo para estes testes, pode ser assumido que a variação está associada a erros aleatórios. Isto quer dizer que o modelo quadrático testado foi adequado para explicar o comportamento de dureza dos comprimidos em função da força de compressão aplicada e da velocidade da máquina de comprimir.

A Tabela 5 mostra os resultados do teste-t para cada uma das variáveis analisadas. Apenas valores de t para os coeficientes da variável força de compressão, tanto linear quanto quadrático, foram intensos o suficiente para demonstrar sua significância no modelo. Na faixa estudada, a variável velocidade da máquina de comprimir contribui apenas com peso insignificante.

A superfície de resposta estimada e a curva de isorrespostas correspondente revelam que a

Termo	Coefficiente	Erro padrão	t
1	-67,74	63,71	1,063
Velocidade	1,184	4,614	0,257
Força	27,91	3,419	8,163*
Interação	0,03003	0,1156	0,259
(Velocidade) ²	-0,03887	0,08896	0,437
(Força) ²	-0,5998	0,08211	7,305*

Tabela 5. Teste-t para os coeficientes do modelo quadrático que descreve o comportamento de dureza. *significativo para $p = 0,95$.

dureza dos comprimidos foi independente da velocidade de compressão (Figura 2). Através do modelo matemático foi possível observar que a resposta de dureza se encontra dentro do limite preconizado pela literatura ¹⁵ (≥ 30 N) quando a força de compressão é igual ou maior do que 4 kN.

Tempo de desintegração

O modelo matemático abaixo foi obtido do ajustamento dos dados do tempo de desintegração (TD).

$$TD = -10,7027 + 1,23V + 4,56F - 0,0686VF - 0,018(V)^2 - 0,09346(F)^2$$

Onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores.

As análises estatísticas dos dados de tempo de desintegração encontram-se descritas nas Tabelas 6 (ANOVA) e 7 (teste-t para os coeficientes da equação). De acordo com o coeficiente de regressão múltipla r^2 , o modelo quadrático proposto foi capaz de explicar aproximadamente 97% da variância experimental ($r^2 = 0,972337$). O teste de falta de ajuste apresentou resultado estatisticamente não significativo. Assim pode-se aceitar que o modelo matemático proposto foi

Fonte	SQ	gl	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	46493,3	5	9298,66	278,13	3,97
Resíduo	234,0	7	33,43	-	-
Falta de ajuste	150,47	3	50,16	2,40	6,59
Erro puro	83,55	4	20,89	-	-
Total	46727,4	12	3893,95	-	-
r^2	0,995	-	-	-	-

Tabela 4. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento de dureza.

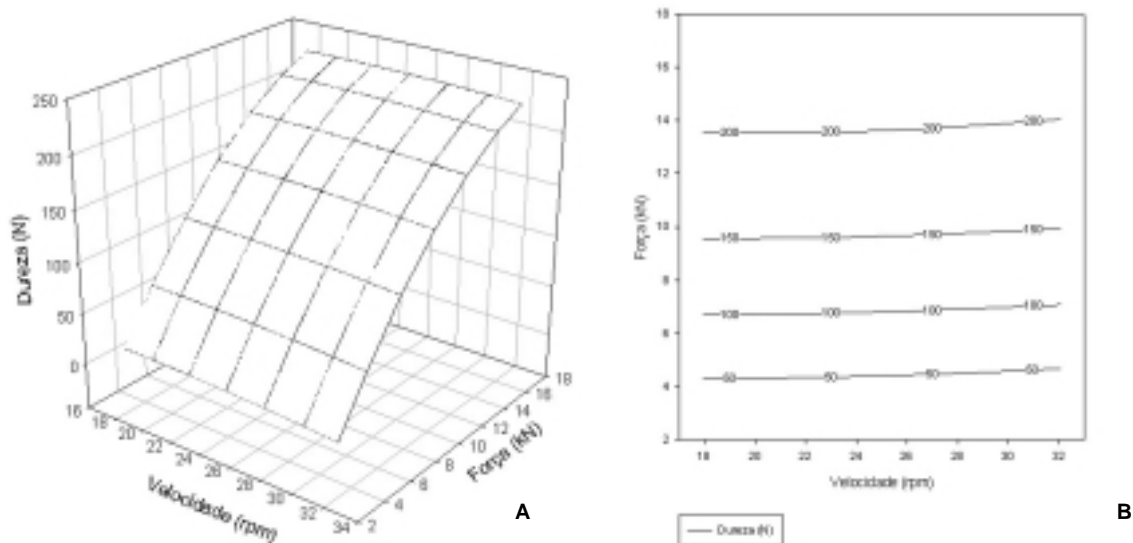


Figura 2. Superfície de resposta (A) e curva de isorrespostas (B), calculadas para a dureza dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

adequado para explicar o comportamento do tempo de desintegração dos comprimidos em função da força de compressão e da velocidade da máquina de comprimir. Desta forma, a variação observada entre os valores experimentais e os valores estimados através do modelo quadrático foi decorrente apenas de erros aleatórios.

De acordo com o teste-t para os coeficientes da equação (Tabela 7), o tempo de desintegração foi influenciado principalmente pela força de compressão (componentes linear e quadrático, respectivamente), seguido da interação entre os fatores. Para a velocidade de compressão não foram observados termos significativos.

A superfície de resposta estimada e as curvas de isorrespostas demonstraram que o tempo de desintegração dos comprimidos foi primordialmente afetado pela força de compressão, seguido pela interação entre as variáveis estudadas

Fonte	SQ	gl	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	262,03	5	52,41	40,84	3,97
Resíduo	8,98	7	1,28	-	-
Falta de ajuste	1,62	3	0,54	0,29	6,59
Erro puro	7,36	4	1,84	-	-
Total	270,76	12	22,56	-	-
r ²	0,9678	-	-	-	-

Tabela 6. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento do tempo de desintegração.

(Figura 3). Tempo de desintegração aceitável (< 30 min)¹⁵ foi observado quando a força aplicada foi inferior a 10 kN. Adicionalmente, a passagem simultânea dos níveis inferiores para os superiores de ambas variáveis independentes levou a formação de uma região estacionária com tempo de desintegração em torno de 25 minutos. Assim, ajustando a máquina em velocidades superiores a 26 r.p.m. foi possível aplicar forças de compressão de até 17 kN sem que o tempo de desintegração ultrapassasse 30 minutos.

Friabilidade

A friabilidade dos comprimidos (FB), foi descrita através da equação abaixo:

$$FB = 0,2094 + 0,5191V - 1,058F - 0,0046VF - 0,00925(V)^2 - 0,04565(F)^2$$

Onde: V = velocidade da máquina, F = força de compressão e VF = interação entre os fatores V e F.

Termo	Coefficiente	Erro padrão	t
1	-10,7	12,5	0,859
Velocidade	1,23	0,902	1,363
Força	4,56	0,669	6,821*
Interação	-0,0686	0,0226	3,034*
(Velocidade) ²	-0,0180	0,0174	1,032
(Força) ²	-0,0935	0,0174	5,374*

Tabela 7. Teste-t para os coeficientes do modelo quadrático que descreve o tempo de desintegração. *significativo para p = 0,95.

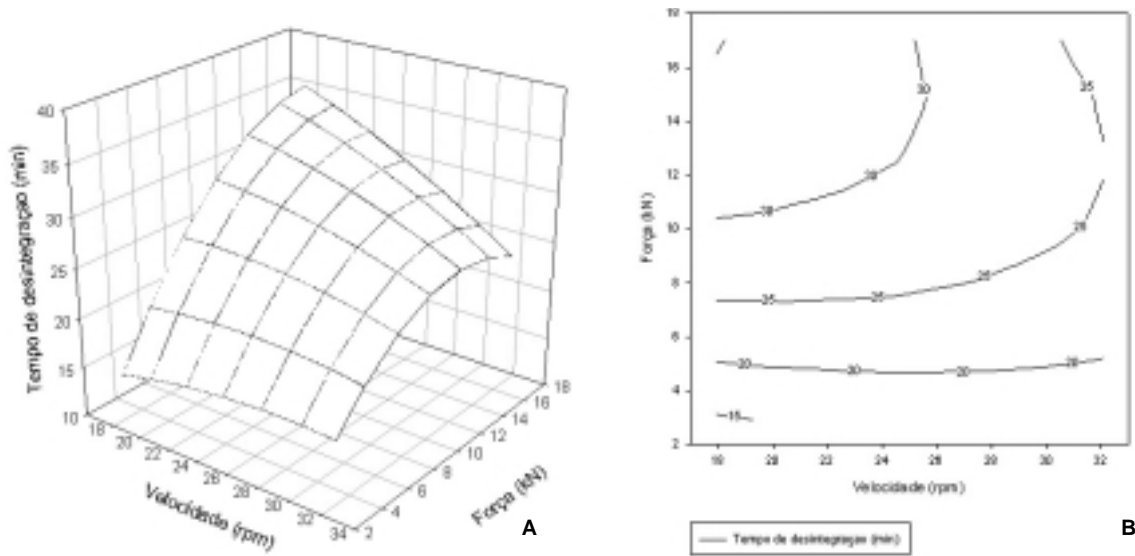


Figura 3. Superfície de resposta (A) e curva de isorrespostas (B), calculados para o tempo de desintegração dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

Fonte	SQ	gl	MQ	F calculado	F tabelado
Regressão	22,86	5	4,57	6,60	3,97
Resíduo	4,85	7	0,69	-	-
Falta de ajuste	4,84	3	1,61	845,09	6,59
Erro puro	0,008	4	0,0019	-	-
Total	27,66	12	2,31	-	-
r ²	0,8528	-	-	-	-

Tabela 8. Análise da variância e coeficiente de correlação múltipla para a equação que descreve o comportamento de friabilidade.

As análises estatísticas para os valores de friabilidade encontrados estão representados na Tabela 8 (ANOVA) e na Tabela 9 (teste-t para os coeficientes da equação). De acordo com o coeficiente de correlação múltipla r², cerca de 85% da variância experimental foi descrita pela equação proposta (r² = 0,8528).

O teste de falta de ajuste apresentou valor de F calculado significativo. Esta observação não satisfaz os parâmetros de validação preconizados pela literatura ¹². De acordo com os resultados obtidos nos testes de validação do modelo matemático, foi possível observar que embora a equação encontrada tenha sido capaz de descrever satisfatoriamente os dados experimentais, a falta de ajuste revelou que a técnica de determinação da friabilidade apresenta uma variação intrínseca importante inviabilizando a validação do modelo matemático para descrever o fenômeno.

O teste-t para os coeficientes da equação, representado na Tabela 9, demonstrou que a força

Termo	Coefficiente	Erro padrão	t
1	-0,5819	9,1790	-0,063
Velocidade	0,5776	0,6649	0,869
Força	-1,0340	0,4927	2,099*
Interação	-0,0046	0,0167	0,276
(Velocidade) ²	-0,0104	0,0128	0,813
(Força) ²	0,0445	0,0128	3,469*

Tabela 9. Teste-t para os coeficientes do modelo quadrático que descreve a friabilidade. *significativo para p = 0,95.

de compressão foi o fator mais importante sobre a friabilidade dos comprimidos. De acordo com a importância estatística, o termo quadrático para a força de compressão foi o mais significativo, seguido pelo termo linear para o mesmo parâmetro. Para os demais termos não foi observada importância estatística.

A superfície de resposta estimada e a curva de isorrespostas para a friabilidade estão repre-

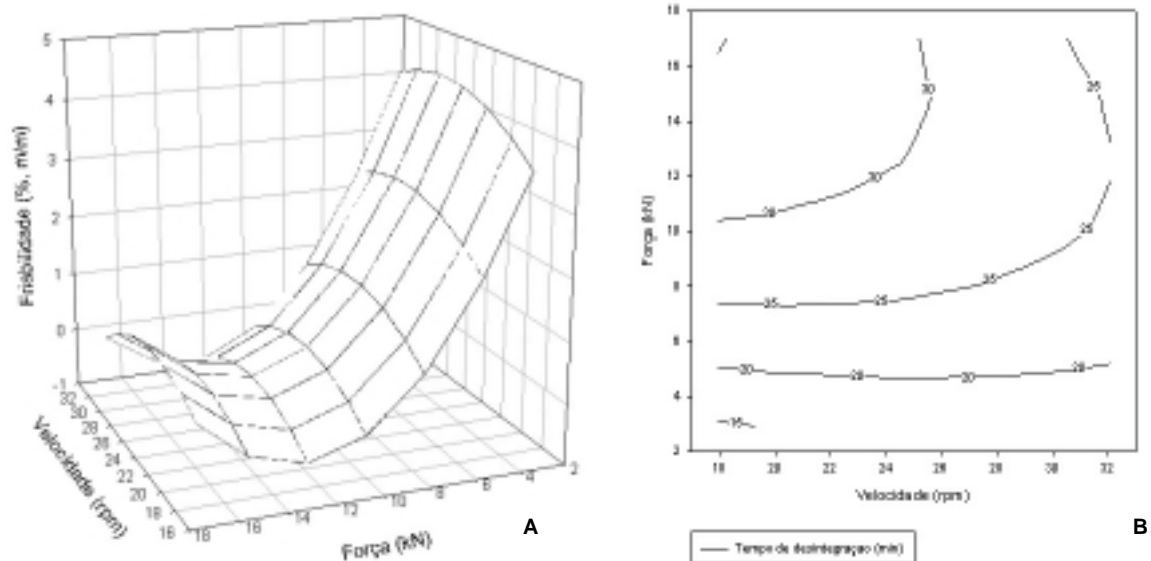


Figura 4. Superfície de resposta (A) e curva de isorrespostas (B), calculados para a friabilidade dos comprimidos, empregando a equação ajustada.

sentadas na Figura 4. Considerando o limite de aceitação para perda de massa preconizado pela literatura ¹⁵ (1,5%), é necessário que os comprimidos sejam preparados através da aplicação de força igual ou maior que 8 kN.

A influência marcante da força de compressão sobre as variáveis de resposta estudadas, é mais bem evidenciada através da sobreposição das curvas de isorrespostas (Figs. 2B, 3B e 4B). A elevação da força de compressão originou comprimidos com maiores dureza e tempo de desintegração, e com menor friabilidade. Devido a reduzida influência da velocidade de compressão sobre a formação dos comprimidos, não foi detectada relação entre as variáveis dependentes ou de resposta. Entretanto, a interação entre as variáveis independentes revelou que há uma influência negativa sobre o tempo de desintegração. Este fenômeno pode estar relacionado a maior capacidade de recuperação elástica da mistura daqueles comprimidos que sofreram menor tempo de aplicação de força. Mesmo nestas condições a recuperação elástica do material não parece ter sido suficiente para afetar a formação de pontes interparticulares, o que garantiu a integridade física dos comprimidos independente da velocidade da máquina.

CONCLUSÕES

A metodologia de superfície de resposta foi empregada com sucesso para descrever as influências da força e da velocidade de compressão sobre comprimidos contendo extrato se-

co de *M. ilicifolia*. Os modelos matemáticos propostos apresentaram elevados coeficientes de correlação descrevendo satisfatoriamente os resultados experimentais.

A força de compressão foi o fator que apresentou maior influência sobre as variáveis de resposta estudadas (dureza, tempo de desintegração e friabilidade).

Ao contrário do sugerido na literatura, o tempo de aplicação de força inferido da velocidade de compressão, na faixa estudada (18 a 32 r.p.m.) não apresentou influência sobre as variáveis de resposta mais relacionadas com a resistência dos comprimidos (dureza e friabilidade). Aparentemente, o tempo de aplicação de força foi suficiente para formação de pontes capazes de manter a coesão dos comprimidos.

Embora os resultados obtidos para friabilidade tenham sido descritos pela equação proposta, não foi possível a validação do modelo matemático devido a falta de ajuste decorrente da variabilidade característica do tipo de experimento.

O tempo de desintegração dos comprimidos foi influenciado por ambas as variáveis analisadas. Enquanto a força de compressão proporcionou aumento nos valores do tempo de desintegração, o aumento da velocidade de compressão, conseqüentemente a redução no tempo de aplicação de força, diminuiu significativamente o tempo de desintegração. Tal comportamento parece estar relacionado com o mecanismo de redução de volume do complexo farmacêutico durante a compressão. Assim compri-

midos que foram submetidos à aplicação de força por menor tempo, apresentariam maior porosidade, e, portanto, a penetração de fluidos pode ter sido favorecida, explicando o fenômeno de redução do tempo de desintegração destes comprimidos.

As condições selecionadas para preparação de comprimidos contendo extrato seco de *M. ilicifolia* foram 8 kN para força de compressão e 32 r.p.m para velocidade da máquina de com-

primir. Sob estas condições os comprimidos obtidos apresentam friabilidade de 0,62% (m/m), tempo de desintegração máximo de 23 minutos e dureza de 117 N.

Agradecimentos. À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e ao DAAD (Serviço Alemão de Intercâmbio Acadêmico) pela concessão de bolsa de doutorado ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

1. Gaudy, D., A., Puech & M. Jacob (1991) *Pharm. Acta Helv.* **66**: 5-10.
2. González Ortega, G. & P.C. Schmidt (1995) *Acta Farm. Bonaerense* **14**: 173-80.
3. De Paula, I.C., G. González Ortega, V.L. Bassani & P.R. Petrovick (1998) *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **24**: 235-41.
4. De Souza, K.C.B., P.R. Petrovick, V.L. Bassani & G. González Ortega (2000) *Drug. Dev. Ind. Pharm.* **26**: 331-6.
5. Linden, R., G. González Ortega, P.R. Petrovick & V.L. Bassani (2000) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **26**: 441-6.
6. De Souza, T.P., V.L. Bassani, G. González Ortega, T.C.T. Dalla Costa & P.R. Petrovick (2001) *Pharmazie*. **56**: 730-3.
7. Palma, S.D., R.H. Mamzo & D.A. Allemandi (1999) *Pharm. Dev. Tech.* **4**: 523-30.
8. Rocksloh, K., F.R. Rapp, S. Abu Abed, W. Müller, M. Reher, G. Gauglitz & P.C. Schmidt (1999) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **25**: 1015-25.
9. Roberts, R.J. & R.C. Rowe (1985) *J. Pharm. Pharmacol.* **37**: 377-84.
10. Myers, H.R. & D.C. Montgomery (1995) *Response Surface Methodology: Process and product Optimization Using Designed Experiments*. New York: John Wiley.
11. Wherlé, P. (1990) *Aspects des analyses multifactoriales des plans d'expériences appliqués à l'optimisation et à la validation de formes et de procédés galéniques*. Paris: Faculté de Pharmacie de Chateay-Malabry. Tese de Doutorado.
12. Wherlé, P., Ph. Nobelis, A., Cuiné & A. Stamm (1993) *Drug Dev. Ind. Pharm.* **19**: 1637-53.
13. Wherlé, P., B. Magenheim & S. Benita (1995) *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **41**: 19-26.
14. Carvalho, E.L.S. (1997) *Desenvolvimento de produto seco nebulizado de *Maytenus ilicifolia* Martius ex Reiss - Celastraceae (espinheira-santa)*. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas).
15. Farmacopéia Brasileira (1988) 4 ed., São Paulo: Andrei.