

INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTUDOS HOMEOPÁTICOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE SÃO PAULO

RICARDO SOPEÑA LADEIRA

PREPARAÇÃO DO EXTRATO SECO DE
Cordia verbenacea

PORTO ALEGRE – RS

2002

**INSTITUTO BRASILEIRO DE ESTUDOS HOMEOPÁTICOS
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE SÃO PAULO**

RICARDO SOPEÑA LADEIRA

**PREPARAÇÃO DO EXTRATO SECO DE
*Cordia verbenacea***

Monografia apresentada para obtenção do título de especialista em fitoterapia pelo IBEHE/FACIS. Orientadores: Prof. Dr. José Carlos Tavares Carvalho e Prof^a. Dr^a. Amália Verônica Mendes da Silva.

PORTO ALEGRE – RS

2002

**A práxis do homem
não é atividade prática contraposta à teoria;
é determinação da existência humana
como elaboração da realidade.**

Kosik

SUMÁRIO

RESUMO.....	07
INTRODUÇÃO	08
1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	09
1.1 Aspectos taxonômicos da Cordia verbenacea	09
1.2 Características botânicas da Cordia verbenacea	09
1.3 Aspectos etnobotânicos e etnofarmacológicos da Cordia verbenacea	10
1.4 Propagação e enraizamento de miniestacas da Cordia verbenacea	12
1.5 Estudo fitoquímico da Cordia verbenacea	13
1.6 Técnicas de obtenção do Extrato fluido e seco de Cordia verbenacea	13
1.7 Flavonóides da Cordia verbenacea	14
1.8 Estudo fitoterápico da Cordia verbenacea	15
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.1 Colheita do material vegetal (Cordia verbenacea)	19
2.2 Identificação botânica do material vegetal colhido (Cordia verbenacea)	19
2.3 Procedimentos com o material vegetal (Cordia verbenacea)	19
2.4 Obtenção do Extrato Fluido de Cordia verbenacea	20
2.5 Características físico-químicas de extrato fluido de Cordia verbenacea	21
2.6 Obtenção do Extrato seco de Cordia verbenacea	21
2.7 Características físico-químicas do Extrato seco de Cordia verbenacea	22
2.8 Doseamento de Flavonóides no Extrato seco de Cordia verbenacea	22

3. RESULTADOS	24
4. DISCUSSÃO	25
CONCLUSÃO	27
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cordia verbenacea DC. 1 – Aspecto geral do ramo florífero. 2 - Flor cortada longitudinalmente. 3 – Ovário em corte transversal. 4 - Aspecto geral da Cordia verbenacea DC. 5 - Diagrama floral. Todas as figuras são originais, exceto 5: segundo Eichler.....	10
Figura 2 - A Cordia verbenacea possui alguns nomes populares: Erva-baleeira, Maria-milagrosa, Catinga-de-barão e Maria-preta.	11
Figura 3 -A erva-baleeira é indicada pelos pretos-velhos da umbanda "para a abertura de caminhos de pessoas que encontram dificuldades nas coisas da vida e para destruir fluídos negativos"	11
Figura 4 - Artemetina: 5-hidróxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona	15
Figura 5 - Desenvolvimento de dermatite em orelhas de camundongos com diferentes doses de óleo de croton. Resultados obtidos com 6 animais.....	17
Figura 6 – Efeito da administração oral do extrato de Cordia verbenacea DC sob edema induzido de nistatina em ratos. Agar a 1% (controle) 4,0ml/kg (—), extrato de Cordia verbenacea DC 1,24 mg/kg (- - - -) e indometacina 5,0 mg/kg (.....). (a): Diferença significativa para o controle (P< 0,05, Tukey); (b): Diferença significativa para o controle e extrato (P< 0,05, Tukey)	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Efeito da aplicação tópica do Extrato de <i>Cordia verbenacea</i> em edema produzido por óleo de Croton em orelhas de camundongos.	17
---	----

RESUMO

Cordia verbenacea conhecida popularmente por erva-baleeira, ou simplesmente baleeira, é um arbusto da família Boraginaceae, que possui como principal propriedade medicinal a atividade antiinflamatória. Esta atividade dá-se pela ação do seu principal flavonóide, uma flavona denominada Artemetina (5-hidróxi-3,6,7,3',4' pentametoxiflavona). O trabalho teve como objetivo a preparação do extrato seco de *Cordia verbenacea* a partir do extrato fluido. A técnica aplicada foi a simples evaporação, em estufa, com temperatura controlada (45°C). Foram executados, e estão relatados, procedimentos como colheita, cultivo de miniestacas, secagem, trituração, tamização, percolação e evaporação. Todos os procedimentos foram executados para preparação do extrato fluido, do extrato seco bruto e para preparação final do extrato seco a 40%. A técnica foi repetida por 5 vezes e obteve-se extratos fluidos, bem como secos com aspecto e características organolépticas semelhantes e com percentuais de variação em volume e massa não variando mais que 1% entre os cinco extratos fluidos e secos obtidos, caracterizando a padronização da técnica. Para qualificar o extrato foram realizados doseamentos no extrato seco. Obteve-se como resultado um percentual de 15,6% de flavonóides totais.

INTRODUÇÃO

A produção de extrato seco, em farmácia de manipulação, é uma prática incomum, haja vista que as indústrias de beneficiamento de fitoterápicos já suprem a necessidade do mercado consumidor. Tal fato ocorre porque as farmácias de manipulação não possuem equipamentos, mão de obra especializada, tempo e laboratório de controle de qualidade, fatores estes imprescindíveis para obtenção de fitoterápicos padronizados com qualidade e eficácia garantidas. A presente monografia nasceu da necessidade de repassar o conhecimento científico para profissionais farmacêuticos objetivando como alternativa um método barato e de simples execução na preparação de pequenas quantidades de extratos fluidos e secos de plantas medicinais, bastando para isso o conhecimento técnico e científico. A monografia descreve de maneira clara e simples todos os procedimentos necessários para que se obtenha tais extratos. Para maior esclarecimento foram descritas todas as técnicas empregadas na preparação dos extratos, inclusive técnica de doseamento.

O assunto escolhido acredita-se ser relevante, posto que os extratos fitoterápicos mostram-se, nos dias atuais, como excelente alternativa para a cura de uma série de enfermidades. Assim sendo, este trabalho, tem como objetivo final prestar auxílio à sociedade a fim de provar que pode-se produzir fitoterápicos, em farmácias de manipulação, comercializando-os com preços reduzidos, qualidade garantida e compatível com medicamentos fitoterápicos, de marca já, consagrados.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 ASPECTOS TAXONÔMICOS DA *Cordia verbenacea*

A *Cordia verbenacea* DC pertence ao super-reino EUKARIONTA, ao reino PHYTA (planta), à divisão ANGIOSPERMAE (angiosperma), à classe das DICOTYLEDONEAS, à ordem TUBIFLORAE e, por fim, à família BORRAGINACEAE (Jolly, 1975)

1.2 CARACTERÍSTICAS BOTÂNICAS DA *Cordia verbenacea*

A família Borraginaceae contém aproximadamente 100 gêneros, com mais de 2000 espécies distribuídas em todo planeta. A *Cordia verbenacea* (Figura 1) é uma planta arbustiva, perene, com folhas de disposição paralelas e internas. As flores são pequenas e reunidas em inflorescências escorpióides, vistosas, pentâmeras, radiais, diclamídeas e hermafroditas. Corola gamopétala. Androceu formado por cinco estames alternados com os lobos da corola. Ovário súpero bicarpelar e bilocular contendo em cada lóculo dois óvulos (Jolly, 1975).

1.3 ASPECTOS ETNOBOTÂNICOS E ETNOFARMACOLÓGICOS DA *Cordia verbenacea*

A *Cordia verbenacea* é um arbusto perene que ocorre ao longo de todo litoral brasileiro, sendo considerada, também, uma planta comum na floresta tropical atlântica (Figura 2 e 3). Esta espécie arbustiva de 80 a 200 cm de altura, com folhas alongadas e lanceoladas, com pontas delgadas, medindo de 5 a 10 cm de comprimento e 2 a 5 cm de largura (Johnston, 1930). Possui vários nomes populares, sendo o mais comum erva-baleeira, ou simplesmente baleeira. Também é conhecida como Maria-preta, Maria-milagrosa e Catinga-de-barão.



Figura 1 – *Cordia verbenacea* DC. 1 – Aspecto geral do ramo florífero. 2 – Flor cortada longitudinalmente. 3 – Ovário em corte transversal. 4 – Aspecto geral da *Cordia verbenacea* DC. 5 – Diagrama floral. Todas as figuras são originais, exceto 5: segundo Eichler. (Jolly, 1975)



Figura 2 - A *Cordia verbenacea* possui alguns nomes populares: Erva-baleeira, Maria-milagrosa, Catinga-de-barão e Maria-preta. (Silva M. et al., 1998)



Figura 3 -A erva-baleeira é indicada pelos pretos-velhos da umbanda "para a abertura de caminhos de pessoas que encontram dificuldades nas coisas da vida e para destruir fluídos negativos" (Silva M. et al. , 1998)

A maneira popular de obtenção da baleeira é por colheita das folhas. Em certas regiões onde a colheita é intensiva, já se comenta sobre as dificuldades em encontrá-la devido a colheita predatória e sem critérios. Neste contexto a concepção de manejo de populações naturais de espécies de uso medicinal, como a *Cordia verbenacea* em regime de rendimento sustentado foi proposta por Fantini (1991). Ele fundamentou-se em dois aspectos básicos: O caráter cíclico da exploração e o equacionamento da exploração de cada espécie individualmente. Assim, para a garantia da exploração cíclica deverão ser observados aspectos da demografia e da biologia reprodutiva de cada espécie a ser manejada. Desta forma, a avaliação da biomassa existente e suas taxas de incremento, a avaliação da dinâmica da reprodução natural (indivíduos novos que compõem a estrutura populacional) e do número de indivíduos reprodutivos necessários para a manutenção da estrutura populacional original, tornam-se imprescindíveis para a manutenção da espécie e a continuidade do processo exploratório. As informações obtidas através da população que desfruta das propriedades farmacológicas da *Cordia verbenacea* dão conta de que serve como analgésico, antiinflamatório, antiinfecioso, antiartrítico, no combate à úlcera gástrica e como tônico (Silva Júnior et al., 1995).

1.4 PROPAGAÇÃO E ENRAIZAMENTO DE MINIESTACAS DA *Cordia verbenacea*

A propagação natural da *Cordia verbenacea* ocorre por sementes, entretanto, pode-se cultivá-la por enraizamento de miniestacas com 10 cm de comprimento. As miniestacas são coletadas da região apical de brotações de mudas com mais de três anos de idade. Essas são submetidas ao plantio diretamente no substrato (sem imersão) ou com imersão de suas bases em soluções contendo 250, 500 e 750 mg/l de ácido indolbutírico (AIB) (Igboanugo, 1987), 100 mg/l de ácido bórico e 20 mg/l de sacarose, durante 24 horas. Posteriormente as miniestacas são plantadas em copos plásticos, contendo como substrato uma mistura de areia e vermiculite, na proporção de 2:1. Testaram-se 20 miniestacas. A presença de AIB influenciou a formação do sistema radicular. Com miniestacas imersas na concentração de 250 mg/l de AIB,

obteve-se 68% de enraizamento e maior número de raízes. Com 750 mg/l de AIB não houve enraizamento e na ausência de AIB obteve-se 18% de enraizamento.

1.5 ESTUDO FITOQUÍMICO DA *Cordia verbenacea*

A análise de componentes inorgânicos (INAA – Instrumental Neutron Activation Analyses) da *Cordia verbenacea* revelou a presença de Alumínio, Bromo, Cálcio, Césio, Cloro, Cobalto, Ferro, Lantânio, Magnésio, Manganês, Potássio, Rubídio, Sódio e Zinco (Saiki M. et al., 1990).

1.6 TÉCNICAS DE OBTENÇÃO DE EXTRATO FLUIDO E EXTRATO SECO DE *Cordia verbenacea*

Segundo Prista (Tecnologia farmacêutica, 1995), para obtenção de Extratos fluidos, a Lixiviação, também chamado de Percolação ou descolação, constitui-se numa das melhores técnicas. A técnica consiste em submeter uma droga pulverizada (Recomenda-se malha 80. Tamização conforme Prista, Tecnologia farmacêutica, 1995) a uma maceração prévia por 48 horas. A etapa seguinte consiste em colocar a droga macerada em um percolador (Recipiente cilíndrico tronco-cônico) à ação de um solvente que atravesse o macerado em toda extensão, deslocando-se progressivamente ao longo dos interstícios existentes entre as partículas da substância. Desse modo, durante o deslocamento, o líquido exerce o seu poder dissolvente sobre os princípios ativos da droga até ficar completamente saturado. A percolação dá-se por completa quando o lixiviado estiver completamente incolor e sem cheiro ou sabor da droga. Existem vários tipos de percoladores e várias técnicas de percolação. Segundo Prista, 1995, a melhor técnica seria a de percolação fracionada, sendo mais demorada e dispendiosa.

Para obtenção do Extrato seco pode-se usar a técnica conhecida por secagem ou evaporação por otimização ou nebulização. Essa técnica permite a evaporação quase instantânea de um líquido, transformando o produto resultante da evaporação em um pó muito fino e tênue. Hoje em dia, esta técnica, tem grande interesse industrial, sendo utilizada por muitos laboratórios medicinais como técnica mais adequada.

Outra forma utilizada para produção de extratos secos é a técnica por Evaporação com Evaporador rotatório, que tem se revelado de extraordinária utilidade no campo farmacêutico, pois graças a ela tornou-se possível a preparação de muitas formas extrativas mantendo inalterados os princípios ativos existentes nas drogas. Esta técnica exige um aparelho especial, o evaporador rotativo, que trabalha sob pressão reduzida. A eficiência do aparelho depende do grau de vácuo, pois quanto maior ele for, mais baixa será a temperatura de ebulição do líquido a evaporar, reduzindo o tempo de evaporação.

1.7 FLAVONÓIDES DA *Cordia verbenacea*

A análise de componentes orgânicos revelou, através de CLAE (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), a presença de vários flavonóides. Quatro deles sob a forma de Heterosídeos. São eles : Robinina, Rutina, Datinosídeo e Hisperidina. Um sob a forma de Aglicona, a Dihidrorobinetina e dois derivados Fenólicos, o Ácido Clorogênico e o Ácido Cafeico. Foram encontrados óleos essenciais e, por fim, a Artemetina que é um flavonóide sob a forma de flavona (Ficarra R. et al.,1995). A Artemetina (Figura 4) é um flavonóide presente na *Cordia verbenacea*, mais especificamente uma flavona de fórmula molecular 5-hidróxi-3,6,7,3',4' pentametoxiflavona. Este flavonóide caracteriza-se por ter atividade antiinflamatória relevante. Em experimentos com ratos, a Artemetina inibiu significativamente o edema induzido por carragenina nas patas de ratos (Sertié et al., 1990).

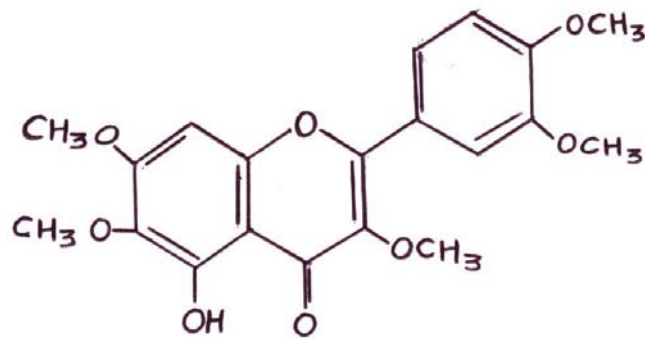


Figura 4 - Artemetina: 5-hidróxi-3,6,7,3',4'-pentametoxiflavona

1.8 ESTUDO FITOTERÁPICO DA *Cordia verbenacea*

Após repetidos experimentos com doses crescentes de extrato alcoólico de *Cordia verbenacea*, as doses de 102,6 mg/kg a 153,9 mg/kg mostraram um efeito inibitório similar ao de 50,0 mg/kg de fenilbutazona de cálcio. Os experimentos toxicológicos subagudos indicaram baixíssima toxicidade. Testes realizados em ratos, com extrato liofilizado a 70%, com administração oral de 1,24 mg/kg, inibiram significativamente o edema induzido por nistatina. O edema foi induzido através do modelo descrito por Schiatti et al. (1970), 1.e 0,1ml (47.600 unidades) com nistatina a 8,5% (Squibb) injetadas na área plantar na pata esquerda traseira dos ratos. Igual volume foi injetado de solução salina na pata direita traseira. Seis horas mais tarde, os animais foram tratados oralmente com 1,24 mg/kg de extrato (Sertié J. A. et. al. 1988) e com 5,0 ml/kg de indometacina (Sigma) (Arrigoni-Martelli et al.,1971). O volume das patas foi determinado pelo método de Plethysmographic descrito por Windwe et al.(1957) 4, 6, 8, 10, 12, 14 e 48 horas após injeção de nistatina (Squibb). Os ratos também foram testados com indução de edema (dermatite) com óleo de Croton (gráfico 1), conforme procedimento descrito por Tubaro et al. (1987) modificado. Com 200mcg de óleo de Croton (Sigma) dissolvidos em 20ml de água/acetona (7:3) que foram aplicados nos ratos, superficialmente no interior da orelha direita. Em igual volume de solvente foi aplicado exatamente da mesma maneira, porém na orelha esquerda. Após 3 minutos os animais foram tratados topicamente com 20mcg de 0,09mg/orelha de extrato (Basile et. al.,1989) e 1,0mg/orelha de Naproxeno (Sigma) ou desametasona (Merck, Sharp and Dhome),

dissolvidos em acetona/água (7:3). Após Seis horas os ratos foram sacrificados e foram coletados tecidos, com 8mm de diâmetro, da orelha dos ratos tratados e não tratados. Também foram coletadas 2 amostras para avaliação e cálculo de percentual de inibição inflamatória. O ratos também foram submetidos a lesões gástricas de acordo com o método de Takagi et. al., 1964) e (Takagi, 1968) modificado. Ratos com 30 horas de jejum, com livre acesso à água foram tratados com Agar a 1% (controle), 1,24mg/kg de extrato de *Cordia verbenacea* DC, 5,0mg/kg de piroxican (pfizer) (Brogden et al.,1981) ou 50mg/kg de fenilbutasona de cálcio (Boehringer-Ingelheim) (Basile et al., 1988). Passados trinta minutos, os animais foram submetidos ao estresse, onde foram colocados em jaulas e submergidos em água circulante a 25°C e sob 17 horas de luz fluorescente. Depois desse período, os animais foram sacrificados, e os estômagos extirpados. As lesões foram examinadas em microscópios binoculares (Nikon SMZ-10) em 10X. Foram também induzidas lesões em ratos Wistar e webster de acordo com o método de Rainsford e Whitehouse (1977) modificado. Ratos foram submetidos a 30 horas de jejum, com livre acesso à água. Foram administrados, oralmente, Agar a 1% (controle), Ácido acetil salicílico (Bayer) com doses de efeito antiinflamatório produzidos simultaneamente. Imediatamente os animais foram transferidos a uma sala refrigerada (-15°C) por 45 minutos. Passado este tempo foram injetados 0,1 ml de solução salina com carragenina (Marine Colloids, RE-9340) que foi injetada na área subplantar da pata traseira direita. Noventa minutos após foi determinado o volume da pata na articulação tíbio-tarsal. Após determinado o volume das patas de cada animal, os mesmos foram sacrificados e seus estômagos removidos. As lesões foram examinadas, com microscópio binoculçar (Nikon SMZ-10) 10x, em número e intensidade e em seguida foram classificadas. As doses experimentadas mostraram importante efeito protetor da mucosa gástrica, reduzindo significativamente o número de lesões gástricas, tão comum com o uso de antiinflamatórios convencionais, tal como o naproxeno. O efeito antiinflamatório do extrato alcoólico da *Cordia verbenacea*, também foi constatado no uso tópico em orelhas de ratos em doses 0,09 mg por orelha. Os resultados foram bem mais efetivos que 1,0 mg por orelha de naproxeno, com redução significativa do edema induzido por óleo de croton (tabela 1).

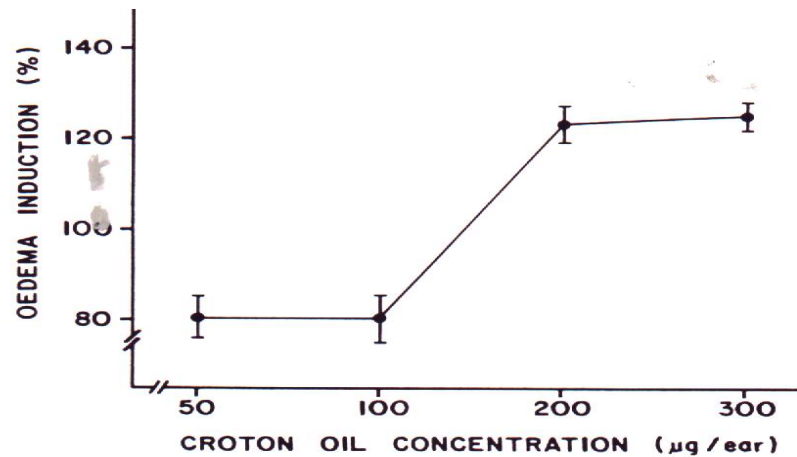


Figura 5 – Desenvolvimento de dermatite em orelhas de camundongos com diferentes doses de óleo de croton. Resultados obtidos com 6 animais.

Tabela 1 - Efeito da aplicação tópica do Extrato de *Cordia verbenacea* em edema produzido por óleo de Croton em orelhas de camundongo.

Tratamento	Dose (mg/orelha)	Peso (p/orelha)	Inibição do Edema (%)
Controle	-	17,8	-
Extrato	0,09	8,5	50,9
Naproxeno	1,00	12,2	29,5
Dexametasona	0,015	4,2	75,7

Para os experimentos, as folhas de *Cordia verbenacea* foram colhidas na Praia Grande, estado de São Paulo. As folhas foram identificadas por Botânicos do departamento de Botânica do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (USP), Brasil. O Extrato, usado no experimento, foi obtido por extração das folhas frescas (200g) com etanol 70% e em temperatura ambiente. O próximo passo foi a filtração, onde foi obtido um extrato verde escuro que foi submetido à redução de pressão e sob temperatura de 50°C para torná-lo um extrato aquoso e viscoso, que foi então liofilizado (Sertié J.A. 1990). A seguir, o gráfico nos mostra o efeito da administração do extrato de *Cordia verbenacea* em edema produzido por nistatina. O gráfico faz um comparativo com o controle, o extrato de *Cordia verbenacea* e a indometacina. O experimento foi realizado com sete ratos. (gráfico 2). O gráfico nos mostra o efeito antiinflamatório. O extrato de *Cordia verbenacea* mostrou-se bem eficiente em relação ao grupo controle, entretanto, o efeito da indometacina foi mais significativo em relação ao extrato de *Cordia verbenacea* e ao controle.

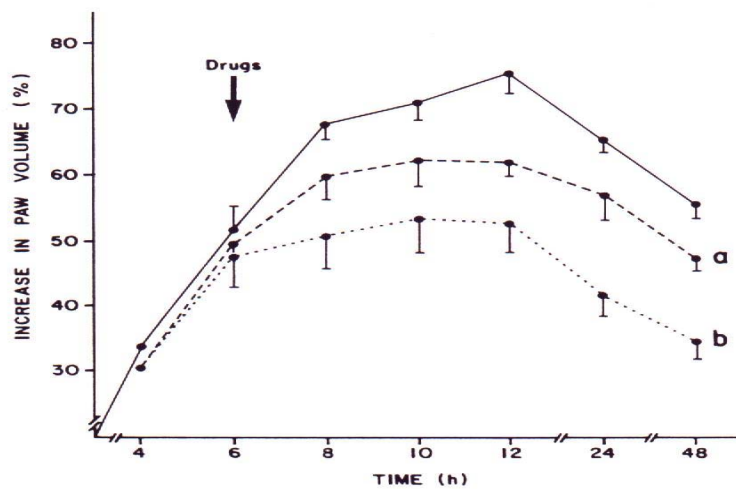


Figura 6 – Efeito da administração oral do extrato de *Cordia verbenacea* DC sob edema induzido de nistatina em ratos. Agar a 1% (controle) 4,0ml/kg (—), extrato de *Cordia verbenacea* 1,24 mg/kg (- - -) e indometacina 5,0 mg/kg (.....). (a): Diferença significativa para o controle ($P < 0,05$, Tukey) Diferença significativa para o controle e extrato ($P < 0,05$, Tukey) .(Sertíe et al., 1990)

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 COLETA DO MATERIAL VEGETAL (*Cordia verbenacea*)

A colheita do material vegetal foi feita no balneário do Valverde, praia do Laranjal, na cidade de Pelotas, no Rio Grande do Sul.

Foram colhidas cerca de 5,5 kg de folhas, em perfeito estado, por volta das 8:00 horas da manhã, logo após terem sido secas pelo sol, pois ainda estavam molhadas pelo orvalho. A colheita foi feita na pré-floração, em setembro de 2002.

2.2 IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA DO MATERIAL VEGETAL COLHIDO (*Cordia verbenacea*)

A identificação botânica foi realizada pela Prof^a Maria Antonieta Chapon, Botânica do Departamento de Biologia da Universidade Católica de Pelotas. As características botânicas foram positivas para a *Cordia verbenacea* conforme itens 1.1 e 1.2 da revisão bibliográfica.

2.3 PROCEDIMENTO COM O MATERIAL VEGETAL (*Cordia verbenacea*)

Após a colheita, as folhas foram submetidas à catação para retirada de impurezas, como grãos de areia, pedaços de outros vegetais e inseto e/ou parte destes. A seguir, procedeu-se uma nova seleção, onde foram selecionadas as folhas de melhor estado de conservação, restando, dos cerca de 5,5 kg, apenas 5,0 kg. Na

etapa seguinte partiu-se para a secagem que foi realizada à sombra (PRISTA, Tecnologia farmacêutica, 1995) em laboratório e com umidade controlada em cerca de 60%, pois a cidade de Pelotas, na primavera, tem uma umidade relativa do ar de 85% em média. A secagem ao ar livre (na rua), seria imprudente devido à alta umidade. Após 5 dias, as folhas estavam completamente secas e a perda média de umidade foi de 70%. Dos 5,0kg de folhas verdes que tínhamos, restaram 380g de folhas secas.

Após a secagem, procedeu-se a trituração que foi realizada em moinho elétrico e de facas. As folhas secas foram reduzidas a pó e, logo a seguir, foram submetidas à tamização (PRISTA, Tecnologia farmacêutica, 1995). Recolhido o pó de malha 80 obteve-se 350g do material vegetal de *Cordia verbenacea*. O material foi devidamente etiquetado e imediatamente embalado em recipiente leitoso, lacrado e com dessecante de sílica para controle da umidade, até o início do próximo procedimento.

2.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO FLUIDO DE *Cordia verbenacea*

De posse do material moído de *Cordia verbenacea* o próximo passo foi a preparação do extrato fluido. Na primeira etapa, procedeu-se a maceração dos 350g do material vegetal, umidecendo-o por completo com solução hidroetanólica a 70% (solução extrativa ideal para extração dos flavonóides em geral) e deixando-o em repouso por cerca de 24 horas. Após 24 horas colocou-se o material vegetal macerado convenientemente acomodado no percolador de aço inoxidável com capacidade para 2 litros. O material vegetal foi colocado na parte inferior do percolador sobre 3 cm de algodão hidrófilo. A massa de macerado foi levemente prensada para não deixar canais de escoamento do líquido extrator. Em cima desta massa foram colocados um papel filtro e um disco perfurado de aço inoxidável, o qual foi colocado com uma leve pressão. Com a torneira do percolador aberta foram vertidos, no mesmo, cerca de 525 ml de solução extrativa (solução hidroetanólica a 70%). Logo que a coluna do fármaco ficou impregnada com o líquido e começou a escoar, regulou-se a torneira do percolador para dar vazão de 5 gotas por minuto. O processo findou-se após 35 horas de percolação, tempo necessário para perceber

que o líquido escoado permaneceu incolor e inodoro indicando o fim da percolação (Prista, 1995). O extrato foi devidamente etiquetado e armazenado em frasco de vidro âmbar e vedado com batoque e tampa de rosca, em local com temperatura controlada, longe do calor e de luz solar direta, aguardando a próxima etapa do processo.

2.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO EXTRATO FLUIDO DE *Cordia verbenacea*

O extrato fluido de *Cordia verbenacea* possui coloração marrom escuro, sabor picante e com cheiro característico, forte, semelhante ao das folhas verdes quando esmagadas. Os 517,0 ml obtidos da percolação possuem, de massa, o equivalente a 530,8g, densidade de 1,027 e teor alcoólico de 60° GL.

2.6 OBTENÇÃO DO EXTRATO SECO DE *Cordia verbenacea*

Partindo do Extrato fluido de *Cordia verbenacea*, o próximo passo foi a preparação do extrato seco. Sob temperatura controlada em estufa, o extrato fluido foi submetido à evaporação a 45°C. O recipiente escolhido foi um copo Becker com capacidade para 600 ml. Esse processo nada mais é do que uma simples evaporação. Ao final de 5 dias de evaporação forçada, foi recolhido o extrato seco bruto. Este extrato foi submetido à trituração e posteriormente diluído a 40% com amido de milho. Procedeu-se por 5 vezes a tamização e trituração até homogeneização completa do material à malha 80. Esse procedimento foi necessário para facilitar a manipulação nos encapsuladores e para melhor armazenamento, haja vista que, o extrato seco bruto é extremamente higroscópico, o que dificultaria seu armazenamento e também diminuiria seu prazo de validade. O extrato obtido caracterizou-se por ser tênue, de odor forte, característico das folhas “in natura” quando esmagadas. O material foi devidamente etiquetado e hermeticamente fechado em frasco de polipropileno (material virgem), aguardando a próxima etapa, o doseamento de flavonóides totais.

2.7 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DO EXTRATO SECO DE *Cordia verbenacea*

O extrato seco de *Cordia verbenacea* possui coloração marron claro com cheiro característico, forte, semelhante as folhas verdes quando esmagadas. Possui sabor levemente picante. 1g do extrato corresponde em volume a 1,3ml.

2.8 DOSEAMENTO DE FLAVONÓIDES NO EXTRATO FLUIDO E EXTRATO SECO DE *Cordia verbenacea*

O doseamento foi realizado pela Prof^a Dr^a Jussara Maria Oliveira Mesquita da Universidade de Alfenas, Minas Gerais.

Descreveu-se, a seguir, a técnica rápida para dosear o conjunto de compostos flavonolósidos contidos em alguns fármacos. A quantidade de matéria-prima usada varia consoante a sua riqueza.

2.8.1 Reagentes

- Metanol.
- Tetracloreto de carbono.
- Ácido acético glacial.
- Solução de cloreto de alumínio: dissolva 12,00g de cloreto de alumínio em q. s. metanol para 100ml.
- Reagente: junte 20,00ml de pirimidina, 80,00ml de água e 2,500g de solução de cloreto de alumínio.
- Rutósido puro e seco.

2.8.2 Técnica

Ferva um peso conveniente de fármaco reduzido a pó fino (0,500g) com 25,0ml de metanol, a banho-maria, num balão, sob refluxo, durante meia hora; filtre por algodão.

Recolha, no balão anterior, o algodão contendo parte do pó e junte-lhe 20ml de metanol e aqueça-o nas circunstâncias anteriores durante igual tempo; filtre por algodão.

Reúna as duas soluções filtradas e complete o volume de 50ml com mais metanol.

Num tubo de centrifugação misture 5ml da solução metanólica e 2ml de tetracloreto de carbono; junte, depois, 3ml de água; centrifugue.

Tome uma quantidade conveniente da solução sobrenadante que contenha entre 0,15 e 0,7mg de flavonóis (rutósido) e dilua-se com metanol até obter 2ml de solução e à qual junta 0,6ml de ácido acético glacial e 10ml do reagente; complete com água o volume de 25ml.

Em caso de necessidade, filtre a solução e utilize os primeiros 10,0ml do filtrado.

Meça a absorbância no filtrado obtido, sob a espessura de 1cm e no comprimento de onda de 420nm.

Calcule na curva de dosagem a quantidade de flavonóides correspondente.

Curva de dosagem – Dissolva 0,050g de rutósido em 100,00ml de metanol. Tome 0,25ml, 0,5ml, 1,0ml e 1,5ml daquela solução (correspondem a 0,125mg, 0,25mg, 0,5mg e 0,75mg de rutósido) e dilua cada um destes volumes, a 2ml, por adicionamento de metanol. Prossiga estes ensaios como se descreve na técnica antes transcrita; obtêm-se, assim, valores que permitem traçar a curva de dosagem. Calcule, pela técnica habitual, a quantidade de rutósido correspondente ao valor determinado no ensaio com a substância em estudo.

3. RESULTADOS

A identificação botânica do material vegetal colhido foi positiva para *Cordia verbenacea* (Borraginaceae), segundo itens 1.1, 1.2 e figura 1 da revisão bibliográfica. A identificação macroscópica e microscópica foram realizadas pela Prof^a Maria Antonieta Chapon, Bióloga e Botânica do Departamento de Biologia da Universidade Católica de Pelotas.

Os resultados obtidos posteriormente foram os extratos fluidos e secos. Extrato fluido de coloração marrom escuro com cheiro forte, característico das folhas da planta, in natura, quando esmagadas. Obteve-se da percolação 517,0 ml de percolado, equivalente a 530,8g e 51,66% a mais que os 350g do vegetal moido e seco usado para percolar. Da evaporação obteve-se 42,5g de extrato seco bruto com um rendimento de 8,5%.

Foram realizados doseamentos do extrato fluido e do extrato seco. Para o extrato fluido obteve-se um rendimento em termos de flavonóides totais de 6,0%.

Dos 0,5g de extrato seco dosados, obteve-se 0,07g de flavonóides totais, com um rendimento de 15,6% . O doseamento foi realizado pela prof^a Jussara Maria Oliveira Mesquita conforme Técnica descrita no item 3.6.

4. DISCUSSÃO

Pode parecer desnecessário aos olhos de quem convive com plantas, como por exemplo um botânico, fazer identificação botânica macroscópica e microscópica. Entretanto, esta prática é de extrema importância, pois é através dela que podemos ter a certeza científica da planta que temos para trabalhar. Tomemos como exemplo o Gênero *Cordia*, que possui 53 espécies, muitas delas arbustivas e semelhantes à *Cordia verbenacea*. Nesse trabalho, a premissa foi a identificação botânica, pois através da confirmação botânica pode-se dar seqüência à monografia. Partindo da identificação positiva para *Cordia verbenacea*, há alguns aspectos que precisam ser elucidados e esclarecidos em relação as técnicas que foram descritas. Com relação às técnicas botânicas não há de se fazer nenhuma ressalva, posto que as técnicas utilizadas pela Prof^a Maria Antonieta Chapon são de domínio mundial e não há o que se discutir. Entretanto, quanto às técnicas de percolação, de acordo com as Farmacopéias e demais literaturas, o melhor método seria da percolação fracionada. A técnica utilizada foi a percolação direta, pela simplicidade, pelo tempo dispensado de trabalho e pelo baixo custo. As técnicas para obtenção de extrato seco mais eficientes, ou teoricamente mais eficientes, como por nebulização e evaporação rotativa são dispendiosas para serem feitas em farmácia de manipulação. Foi por essa razão que optou-se pela percolação simples e pela simples evaporação com temperatura controlada, ou seja, por razões de custo-benefício. A RDC 33 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) determina que se tenha Boas Práticas de Manipulação (BMP) com os requisitos mínimos necessários e imprescindíveis para obtenção de um medicamento. No caso da preparação do extrato seco, de *Cordia verbenacea*, tomou-se todos os cuidados para o

cumprimento das Boas Práticas de Manipulação, cumprindo com rigor passo a passo todas as técnicas utilizadas. Sabe-se que com os métodos mais modernos e com aparelhos sofisticados, ganha-se principalmente no tempo de obtenção dos extratos, entretanto para pequenas quantidades, o tempo se torna irrelevante em relação ao custo dos aparelhos. Como as quantidades consumidas de Extrato seco em Farmácias de manipulação são pequenas, avaliou-se que as técnicas utilizadas, apesar de simples, tiveram um baixo custo com excelentes resultados. O resultado do doseamento de flavonóides totais foi a prova científica de que a escolha dos métodos utilizados foi a mais apropriada em se tratando de farmácia de manipulação de pequeno porte. Em relação ao doseamento, cabe aqui ressaltar: sabe-se que algumas das grandes indústrias produtoras de extratos secos possuem laboratório de controle de qualidade, num processo onde cada lote ou partida é analisado qualitativa e quantitativamente quanto aos princípios ativos, procedimentos necessários para garantia e eficácia do medicamento. Entretanto, as Farmácias de manipulação, se não dispuserem de tal tecnologia, podem terceirizar as análises para controle de qualidade diminuindo, assim, o custo.

Por fim, tendo obtido uma padronização da técnica e, de acordo com os resultados obtidos, obteve-se com técnicas simples e não muito dispendiosas, um certo grau de eficiência em relação às técnicas mais avançadas para preparação de extratos secos.

Cabe ressaltar que, em boa parte da monografia, comentou-se sobre a atividade fitoterápica, com extratos, da *Cordia verbenacea*, principalmente em se tratando de efeito antiinflamatório e protetor da mucosa gástrica. Entretanto, esta monografia não teve o propósito de fazer comparativos em relação a esses experimentos. Em primeiro lugar, porque a literatura disponível jamais fez menção ao percentual de flavonóides presente nos extratos testados e, em segundo lugar, porque o propósito da monografia era a validação das técnicas para obtenção de extratos secos a partir de extratos fluidos. Para próximos experimentos, seria interessante um comparativo entre o efeito antiinflamatório dos extratos produzidos pela equipe do Prof Panizza da Universidade de São Paulo (USP), e os produzidos e descritos nesta monografia.

CONCLUSÃO

De maneira geral, na área científica, acredita-se que, quanto mais tecnologia se tem, maior será a eficiência em relação a produção e produtividade. Entretanto, a realidade de cada situação é que vai determinar o quanto e como devemos usar a tecnologia. Os extratos obtidos nesse trabalho, de caráter técnico-científico, foram obtidos com poucos recursos financeiros, com técnicas e aparelhos simples, ou seja, de acordo com a realidade de uma Farmácia de manipulação de pequeno porte. Os resultados obtidos, no entanto, foram satisfatórios, tendo em vista a simplicidade das técnicas empregadas. Comprovou-se que com poucos recursos e Boas Práticas de Manipulação pode-se obter produtos fitoterápicos de excelente qualidade e com preços compatíveis com a realidade social. A garantia da qualidade foi respaldada por profissionais que atestaram, através de técnicas e laudos, a qualidade dos extratos obtidos. Dessa maneira, podemos dizer que o objetivo inicial da monografia foi alcançado, ou seja, obteve-se o Extrato seco de *Cordia verbenacea* de acordo com todos os critérios estabelecidos pela literatura pesquisada e com comprovação da presença de flavonóides.

Para dar maior relevância à monografia, a pesquisa bibliográfica fez menção aos trabalhos e pesquisas realizadas referente à atividade antiinflamatória da *Cordia verbenacea*, tanto em uso oral quanto tópico. Os experimentos em animais comprovaram a atividade antiinflamatória com significativa proteção da mucosa gástrica. Também fez-se referência ao cultivo de *Cordia verbenacea* com miniestacas. Esta referência não foi ao acaso, visto que é uma planta muito utilizada na medicina popular e em muitas regiões litorâneas do Brasil já se encontra escassa devido ao uso predatório.

Por fim, sabe-se que o assunto não se esgota por aqui, pois a ciência é inesgotável e a pesquisa está sempre aberta a novas hipóteses e teorias. Acredita-se que, de acordo com o que foi proposto inicialmente, alcançou-se o esperado. Sabe-se, também, que mais ainda pode ser pesquisado e estudado a cerca deste assunto, até porque a mola propulsora para um pesquisador é a sede de conhecimento e a procura por melhores resultados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BALBACH, A. A **Flora Nacional na Medicina Doméstica**. vol. 2. São Paulo: Edição do Lar, 1979.

LAMEIRA, O. A. ; PINTO, J.E.B.P.: ARRIGONI-BLANCK.M. DE F. **Enraizamento de Miniestacas de erva-baleeira**. v. 15. nº2, p.114-116, nov. Brasília: Horticultura Brasileira, 1997.

JOLY, AYLTHON BRANDÃO. **Botânica: Introdução a taxonomia vegetal**. 12.ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

SIMÕES, Cláudia M. **Farmacognosia: da planta ao medicamento [et al.]**. 3d. Rev. – Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2001.

FARMACOPÉIA HOMEOPÁTICA BRASILEIRA. 1ª ed. Ed. Andrei. São Paulo: 1977.

SERTIÉ J.A.; BASILE A.C.; PANIZZA S.; MATIDA A.K.; ZELNIK R. **Antiinflammatory activity and sub-acute toxicity artemetin**. *Planta med*, 56:1, 1990 Feb, 36-40.

SAIKI M.; VASCONCELLOS M.B.; SERTIÉ J.A.; **Determination of inorganic componentes in Brazilian medicinal plants by neutron activation analysis**. p. 26-27, jul-dec. *Radiochemistry Division*, São Paulo, Brazil: Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, 1990.

SERTIÉ J.A.; BASILE A.C.; PANIZZA S.; OSHIRO T.T.; AZZOLINI C .P.; PENNA S.C. **Pharmacological assay of cordia verbenacea.III: Oral em topical antiinflammatory Activity and gastrotoxicity of a crude leaf extratct**. p. 239-47, Feb. São Paulo, Brazil: Departament of farmacology, Universidade de São Paulo, 1991.

SILVA, BRENO MARQUES; MARQUES EDINARA VASCONCELOS. **As essências florais de Minas, síntese para uma medicina de almas**. Campinas: Luz azul editorial, 1998.

PRISTA, L. NOGUEIRA; ALVES, A. CORREIA; MORGADO, RUI. **Tecnologia Farmacêutica**. vol. 1-2. 4^a ed. Lisboa: Serviço de Educação Calouste Gulbenkian, 1995.