

TRABALHOS ORIGINAIS

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS DO EXTRATO FLUIDO DE *Cordia ecalyculata* Vell - BORAGINÁCEAE.

Physical and chemical characteristics of fluid extract of
Cordia ecalyculata Vell - Boraginaceae.

MARIA LÚCIA SAITO* e FERNANDO DE OLIVEIRA**

São apresentadas características físicas e químicas e a determinação do teor de alantoina nos extratos fluidos de *Cordia ecalyculata* Vell, planta medicinal popularmente conhecida como "chá de bugre" e "porangaba". A alantoina foi encontrada em teores variando de 0,36 a 0,73% nos extratos fluidos, preparados com drogas de procedências diferentes. Verificou-se também a presença de ácido alantóico, produto de decomposição da alantoina, nos extratos fluidos, que ao mesmo tempo tiveram o valor do pH alterado.

UNITERMOS: *Cordia ecalyculata* Vell - Alantoina - Extrato fluido - Chá de bugre.

1 - INTRODUÇÃO

O extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell, planta medicinal conhecida vulgarmente por "chá de bugre" e "porangaba", vem sendo muito utilizada, internamente como diurético e emagrecedor, e externamente como cicatrizante e emoliente (4).

Pesquisa recente evidenciou a presença de quantidade apreciável de alantoina neste vegetal (5). Entretanto, não consta da literatura, trabalhos que permitam a identificação e a caracterização do extrato fluido de "chá de bugre".

* EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. - CNPDA
Caixa Postal 69 - Jaguariuna, SP - Brasil.

** Departamento de Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo - Caixa Postal 30.786 - São Paulo, SP - Brasil

O objetivo deste trabalho é fornecer dados que permitam a caracterização e identificação deste extrato fluido.

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Materiais

2.1.1 - Preparo do extrato fluido

Os extratos fluidos foram elaborados conforme o método A da Farmacopéia Brasileira 2ª edição (2), usando como líquido extrator mistura de álcool e água na proporção de 1:2.

Foram preparadas quatro amostras de extrato fluido, a saber: Extrato A: empregando como droga, fragmentos de caules provenientes de exemplares existentes no Horto Oswaldo Cruz - Butantã; Extrato B: empregando como droga, folhas provenientes de exemplares existentes no Horto Oswaldo Cruz - Butantã; Extratos C e D, empregando folhas e caules finos procedentes do Estado do Paraná.

2.2 - Métodos

2.2.1 - Determinação do teor alcoólico

Os teores alcoólicos dos extratos fluidos foram determinados de acordo com o recomendado pela Farmacopéia Brasileira 3ª edição (3).

2.2.2 - Resíduo seco

Dez mililitros do extrato fluido foram colocados em cadinho previamente dessecado e tarado, seguindo-se a evaporação do solvente em banho-maria e secagem até peso constante. Os resultados foram expressos com o valor médio de três determinações.

2.2.3 - Determinação de cinzas

Os cadinhos contendo o resíduo seco do ensaio anterior, foram inicialmente submetidos a combustão em bico de Bunsen e a seguir transferidos para mufla a 600°C onde permaneceram até peso praticamente constante. Calculou-se a porcentagem de cinzas, a qual foi expressa através do valor médio de três determinações.

2.2.4 - Densidade

A determinação da densidade dos extratos fluidos foram efetuadas com o auxílio do método do picnômetro, à temperatura de 20°C. O resultado

foi expresso como a média de três determinações.

2.2.5 - Determinação de pH

Esta determinação foi efetuada diretamente nos extratos, em pHmetro Richmond-Surrey modelo 388.

2.2.6 - Cromatografia em camada delgada

Os extratos fluidos de *Cordia ecalyculata* Vell, foram submetidos a análise em cromatografia em camada delgada, empregando-se como adsorvente silicagel G ou silicagel GF. Como fase móvel foram empregadas as seguintes misturas de solventes: a) acetato de etila: metanol:clorofórmio (5:4:1); b) acetato de etila: metil-eticetona:ácido fórmico e água (5:3:1:1).

A visualização foi efetuada a luz normal e a luz ultravioleta de 254 nm.

Foram empregados como reveladores, reativos de anilsaldedo e p-di metilaminobenzaldeido (6).

Foi utilizado como padrão, solução aquosa a 0,5% de alantoina e de ácido alantóico.

Foram depositadas nas placas cromatográficas, 10 µl tanto do padrão como das amostras de extratos. Empregou-se desenvolvimento ascendente em percurso de 12 cm.

2.2.7 - Quantificação da alantoina e do ácido alantóico (1)

Preparo da amostra

Foram tomados 10 ml de cada um dos extratos fluidos e evaporados sobre banho-maria até quase secura, em cápsulas de porcelana.

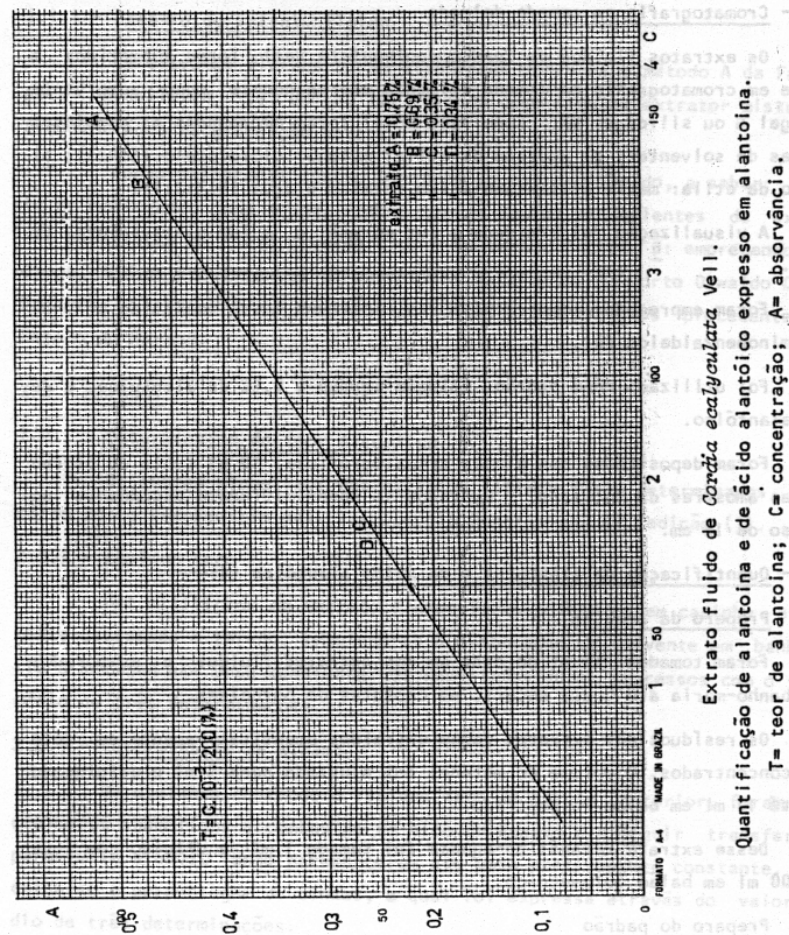
Os resíduos dos extratos foram extraídos quantitativamente em metanol e concentrados. O volume do metanol foi ajustado para 5 ml e adicionado água até 10 ml em balão volumétrico.

Desse extrato metanólico-aquoso foi tomado 1 ml e diluído com água para 200 ml em balão volumétrico.

Preparo do padrão

Foram preparadas soluções-padrões nas concentrações de 0,3%, 0,4%, 0,5%, 0,6% e 0,7% em água. Um mililitro de cada uma dessas soluções foi diluído com água para 200 ml em balão volumétrico.

Marcha analítica



2,5 ml das soluções (amostra e padrão) foram aquecidas separadamente em banho-maria com 0,5 ml de hidróxido de sódio 0,6M durante 15 minutos. Após esse período foram adicionados 1 ml da solução a 0,1% de 2,4-dinitrofenilhidrazina em ácido clorídrico 2M, continuando o aquecimento por mais 2 a 4 minutos.

Os tubos foram esfriados à temperatura ambiente e as soluções alcalinizadas com 5 ml de hidróxido de sódio 2,5M.

Após cerca de 10 minutos, procedeu-se à leitura em espectrofotômetro Beckman DB-G a 520 nm contra branco, preparado utilizando-se os mesmos reativos, omitindo-se o aquecimento.

Com os dados obtidos traçou-se curva padrão. Utilizando-se no cálculo a seguinte equação:

$$\frac{A}{P} \cdot C_p \cdot \frac{200 \times 100}{2,5} = T$$

onde: A = absorvância da amostra, P = absorvância do padrão (média), C_p = quantidade do padrão em gramas, T = % de alantoina em grama.

3 - RESULTADOS

3.1 - Teor alcóolico

Extrato A = 26,6% ; extrato B = 26,5% ; extrato C = 22,3% e extrato D = 25,8%.

3.2 - Resíduo seco

Extrato A = 5,48% ; extrato B = 6,5% ; extrato C = 5,05% e extrato D = 4,71%.

3.3 - Cinzas

Extrato A = 1,34% ; extrato B = 2,06% ; extrato C = 1,41% e extrato D = 1,26%.

3.4 - Densidade relativa

Extrato A = 0,991 ; extrato B = 0,997 ; extrato C = 0,986 e extrato D = 0,991.

3.5 - pH

Extrato A = 5,6 ; extrato B = 7,0 ; extrato C = 7,2 e extrato D = 6,9.

3.6 - Cromatografia em camada delgada

As tabelas I e II representam resultados obtidos com os extratos fluidos.

3.7 - Determinação do teor de alantoina e de ácido alantóico

A análise quantitativa da alantoina e do ácido alantóico nos extratos fluidos de *Cordia ecalyculata* Vell. pelo método espectrofotométrico apresentaram os seguintes resultados: extrato A = 0,73% ; extrato B = 0,67% ; extrato C = 0,37% e extrato D = 0,36%.

4 - DISCUSSÃO

4.1 - Parâmetros físicos e químicos do extrato fluido

O teor alcóolico dos extratos analisados situaram-se entre 22,3% no extrato C e 26,6% no extrato A.

O resíduo seco por sua vez localizou-se entre 4,71% e 6,50% ao passo que as cinzas entre 1,26% e 2,06%. Houve coincidência no sentido de o extrato possuidor do maior resíduo seco (extrato B = 6,50%) conter igualmente o maior teor em cinzas (2,06%). Diga-se o mesmo com referência aos valores mínimos. O extrato D apresentou 4,71% de resíduo seco e 1,26% de cinzas, estabelecendo os limites mínimos para as drogas ensaiadas.

A densidade relativa dos extratos situou-se entre 0,986 e 0,991. O pH por sua vez variou entre 5,6 e 7,2. Os pHs próximos da neutralidade ou básicos favorecem a hidrólise da alantoina. Para evitar isto seria recomendável a acidificação dos extratos.

4.2 - Cromatografia em camada delgada dos extratos fluidos

O acetato de etila misturado ao metanol e ao clorofórmio na proporção em volume de 5:4:1 e o acetato de etila misturado a metil-etilcetona, ácido fórmico e água na proporção em volume de 5:3:1:1, demonstraram ser eficientes na separação de componentes do extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell quando se emprega como camada delgada a silicagel GF.

O maior número de manchas foi evidenciado empregando-se como fase móvel o acetato de etila: metanol: clorofórmio, na proporção em volume de 5:4:1, empregando-se como agente revelador o reativo de anisaldeído.

O padrão de alantoina empregado com auxiliar na identificação do extrato fluido pode ser evidenciado pelo reativo de anisaldeído.

TABELA I - CCD do Extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell. Adsorvente: silicagel G; Fase móvel: acetato de etila - metil-etilcetona - ácido fórmico - água(5:3:1:1); Revelador: reativo p-dimetilamino benzaldeído.

TABLE I - CCD of fluid extract of *Cordia ecalyculata* Vell. Adsorbent: silicagel G; Solvent system: ethylacetate: methyl-ethylcetone: formic acid:water (5:3:1:1); Spray reagent: p-dimethylamino benzaldehyde.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	amarelo	2	arred.	amarelo	2				69
-	-	-	arred.	amarelo	1	arred.	amarelo	2	58
oval	amarelo	1	-	-	-				30
-	-	-	oval	amarelo	1				17
-	-	-	-	-	-				00

Intensidade: 1=fraca; 2=mediana; arred.=arredondada

hRf 30= Ácido alantóico hRf 58= Alantoina

TABELA II - CCD do Extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell. Adsorvente: silicagel G; Fase móvel: acetato de etila - metanol - cloro fórmio(5:4:1); Revelador: reativo de anisalaldeído.

TABLE II - CCD of fluid extract of *Cordia ecalyculata* Vell. Adsorbent: silicagel G; Solvent system: ethylacetate:methanol:chloroform: (5:4:1); Spray reagent: anisaldehyde.

FOLHA			CAULE			PADRÃO			hRf
Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	Forma	Cor	Int.	
arred.	marrom	1	arred.	marrom	tr				87
arred.	verde	1	arred.	verde	1				72
arred.	amarelo	1	arred.	amarelo	2	arred.	amarelo	2	65
arred.	amarelo	tr	arred.	amarelo	tr				58
arred.	verde	1	arred.	verde	1				54
ogival	verde	2	ogival	verde	2				46
ogival	roxa	tr	-	-	-				34
ogival	verde	tr	-	-	-				26
-	-	-	ogival	rosa	tr				8
circ.	marrom	3	circ.	marrom	3				00

Intensidade: 1=fraca; 2=mediana; 3=forte; tr=traços; arred.=arredondada; circ.=circular.

hRf 65=Alantoina

A visualização desta substância, com o reativo de anisalaldeído, requer 10 minutos de aquecimento para sua observação.

A alantoina e seus derivados são mais eficientemente visualizados quando se emprega como revelador o p-dimetilaminobenzaldeído, seguido de aquecimento. Nestas circunstâncias, estas substâncias aparecem como manchas de coloração amarela. As demais substâncias presentes no extrato não são evidenciadas por este revelador.

Sendo o revelador de p-dimetilaminobenzaldeído seletivo para a alantoina e substâncias aparentadas, presta grande auxílio na caracterização do extrato fluido de *Cordia ecalyculata* Vell.

O ácido alantóico corresponde a produto de hidrólise da alantoina e com frequência ocorre nos vegetais onde a alantoina está presente.

4.2 - Teor de alantoina e de ácido alantóico

Foi empregado o método apresentado por BORCHERS (1), onde a alantoina e o ácido alantóico são transformados em ácido glioxílico.

Os resultados da quantificação da alantoina e do ácido alantóico foram expressos em alantoina.

Verificou-se que as drogas coletadas no Estado de São Paulo apresentaram teores maiores duas vezes aproximadamente que aqueles materiais provenientes do Estado do Paraná.

SUMMARY

Physical and chemical characteristics and allantoin content of *Cordia ecalyculata* Vell fluid extract are presented. Allantoin content varied from 0,38% to 0,73% in these fluid extracts, depending on the source of plant material. Allantoic acid, a by-product of allantoin, was also detected on TLC, mainly in pH-altered fluid extracts.

Key words: *Cordia ecalyculata* Vell - Allantoin - Fluid extract - Chá-de-Bugre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BORCHERS, R. - Allantoin determination. *Anal. Biochem.*, 79(1):612-13, 1977.
- 2 - FARMACOPÉIA DOS ESTADOS UNIDOS DO BRASIL. 3.ed. São Paulo, Gráfica Si-

queira, 1959.

- 3 - FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 3.ed. São Paulo, Andrei, 1977.
- 4 - SAITO, M.L. - Farmacognosia de Cordia scalyoulata (Vell)- Boraginaceae.
São Paulo, 1984 |Dissertação de mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas USP|.
- 5 - SAITO, M.L.; OLIVEIRA, F.; ALVARENGA, M.A. - Alantoina e outros constituintes químicos de *Cordia scalyoulata (Vell)*. - Rev. Farm. Bioq. Univ. S. Paulo, 21(1):14-9, 1985.
- 6 - STAHL, E. - Thin-layer chromatography.- New York, Springer-Verlag, 1969.