



Caracterização físico-química do extrato fluido e seco por nebulização de *Symphytum officinale* L.

José Otávio Carrera Silva Júnior^{1*}, José Luiz Fernandes Vieira², Wagner Luiz Ramos Barbosa³, Newton Lindolfo Pereira⁴

¹Laboratório de Farmacotécnica, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Campus Universitário do Guamá, 66075-110, Guamá, Belém, PA, Brasil,

²Laboratório de Toxicologia, Departamento de Deontologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Pará, Campus Universitário do Guamá, 66075-110, Guamá, Belém, PA, Brasil,

³Laboratório de Fitoquímica, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Pará, Campus Universitário do Guamá, 66075-110, Guamá, Belém, PA, Brasil,

⁴Laboratório de Farmacotécnica, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Av. do Café s/n, Monte Alegre, 14040-903, Ribeirão Preto, SP, Brasil

RESUMO: O artigo reporta a obtenção do extrato fluido de *Symphytum officinale* L., e posterior secagem por nebulização, e a caracterização físico-química por técnicas termogravimétricas, espectroscópicas e cromatográficas. O adjuvante de secagem utilizado foi hidroxietilcelulose na concentração de 1,5%. Foi observado que o processo de secagem por nebulização, nas condições operacionais estabelecidas, não influenciou as características dos constituintes do extrato seco em relação ao extrato fluido pelas técnicas utilizadas.

Unitermos: *Symphytum officinale*, parâmetros de secagem, hidroxietilcelulose, TGA, IV, CLAE.

ABSTRACT: "Physicochemical characterization of fluid and dry nebulization extract of *Symphytum officinale* L." This work reports the obtaining of the *Symphytum officinale* L. fluid extract dried by spray-drying and its physicochemical characterization by thermogravimetric analysis, spectroscopic and chromatographic techniques. Hydroxyethylcellulose at 1,5% was used as technological adjuvant. We observed that the drying process by spray-dryer, on the established operational conditions, did not have influence in the characteristics of the dry extract constituents in relation to the fluid extract by the used techniques.

Keywords: *Symphytum officinale*, spray drying, hydroxyethylcellulose, TGA; IR; HPLC.

INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais no Brasil vem se consolidando nos últimos tempos em especial com a promulgação da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (Brasil, 2004). Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que mais da metade dos habitantes da terra especialmente nos países pobres e em desenvolvimento fazem uso de ervas medicinais na busca de alívio de sintomatologia dolorosa ou desagradável, e que desse total pelo menos 30% as utilizam por indicação médica (Estrela, 1995). No mercado brasileiro de medicamentos e cosméticos, 25% dos produtos fabricados contêm princípios ativos naturais.

Symphytum officinale L. (confrei) é uma Boraginaceae de clima temperado que foi introduzido no Brasil e se adaptou facilmente às regiões de clima tropical. Ocorre entre os estados do Paraná e Amazonas,

principalmente em São Paulo (Alzugaray; Alzugaray, 1988), onde, entretanto, é encontrada apenas na forma cultivada (Matos, 1994). O estudo morfoanatômico das folhas e raiz desta espécie foi descrito por Toledo et al. (2003; 2006). No extrato etanólico das folhas foram detectadas as seguintes classes de metabólitos secundários: alcalóides, flavonosídeos, esteróides e triterpenóides. Já o extrato aquoso contém: saponosídeos e taninos condensados, principalmente. Compostos fenólicos foram encontrados no rizoma além de amido e lignina (Toledo et al., 2006).

Diversas propriedades terapêuticas, tais como atividade hemostática e antiinflamatória, são atribuídas à planta toda, mas principalmente às raízes e rizomas devido à presença de taninos e mucilagens; já a alta atividade cicatrizante, é atribuída à substância alantóina, que atua como regeneradora, estimulando o crescimento de tecidos novos e sadios (Duarte, 1984; Falcão et al., 2005). Nesse sentido recomenda-se a incorporação do

extrato fluido de *Symphytum* em cremes evanescentes a fim de potencializar a ação umectante e emoliente de tais preparações (Soares et al., 1986). Outras propriedades terapêuticas, descritas para esta espécie são: anticoagulante (Chiryat'ey; Rusakova, 1994), bactericida, antifúngica e antihipertensiva (Sener; Atta-Ur, 1994). Morrison e West (1982) avaliaram o potencial hipoglicemiante de dezenas de espécies de plantas. O extrato aquoso das folhas de *Symphytum officinale* estava entre os menos ativos (Barbosa-Filho et al., 2005).

Extratos vegetais secos por aspersão têm sido utilizados como produtos finais e intermediários na obtenção de diferentes formas farmacêuticas (Vasconcelos et al., 2005). Apesar da forma fluida dos extratos ser a mais comumente comercializada, somente após a retirada de parte do líquido extrator é que as formulações sólidas, semi-sólidas ou líquidas podem ser preparadas. Porém, se a eliminação do solvente não for realizada corretamente pode-se provocar a perda de constituintes químicos do extrato.

A padronização de matérias primas, no caso do *Symphytum officinale* proposta originalmente por Saito e Oliveira (1986), representa um grande desafio, especialmente para reprodução de efeitos biológicos já que apresentam complexos requisitos para a avaliação da composição, constância, estabilidade, contagem microbiológica, etc.

Por fim, a espécie selecionada para a realização do presente trabalho figura como uma das mais utilizadas na forma tópica para o tratamento de afecções da pele de pacientes que buscam a atenção básica à saúde no Distrito Federal – Brasil. A garantia da segurança de uso e da qualidade das preparações poderá contribuir para a inserção da espécie na Relação Nacional de Medicamentos Fitoterápicos (Barbosa, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

Material Vegetal

O *Symphytum officinale* L., foi adquirido diretamente da empresa YOD Comércio de Produtos Naturais LTDA, na condição de planta seca e pulverizada, com certificado garantia.

Preparação do extrato fluido

A extração do material foi realizada de acordo com o método preconizado pela Farmacopéia Brasileira II edição (1959), em processo geral A para a obtenção de extrato fluido.

Análise preliminar das características de secagem do extrato fluido

As características de secagem do extrato fluido de *Symphytum officinale* puro e adicionado com

diferentes concentrações do adjuvante de secagem escolhido (hidroxietilcelulose - HEC), foram avaliadas pelo espalhamento de 5g de cada amostra em uma placa de vidro. Em seguida a placa foi submetida à secagem em estufa de ar circulante por 1 hora a 95 °C.

A Adição de HEC no extrato se deu nas concentrações de 0,5, 0,75 e 1,5% (p/v) sob constante agitação em agitador magnético a 400 rpm. A formulação contendo 1,5% de HEC foi preparada pela adição do adjuvante após a diluição do extrato com água destilada na proporção de 1:1.

Secagem da formulação selecionada pelo método de spray drying

Para a etapa de secagem do extrato seco de *S. officinale* foi empregado um *spray dryer*. A atomização do material dentro da câmara foi realizada pelo emprego de uma bomba peristáltica e de um bico atomizador tipo duplo fluido com diâmetro de saída de 2 mm. As condições operacionais empregadas nesse trabalho estão descritas na Tabela 1.

A vazão do ar de secagem empregada durante o processamento foi calculada através da utilização de um tubo de Pitot acoplado a um manômetro de água, através da equação:

$$V_o = A \sqrt{\frac{(\rho_m - \rho) \Delta h \cdot g}{\rho}}$$

Tabela 1. Condições operatórias utilizadas na secagem por nebulização do extrato fluido de *Symphytum officinale*

Parâmetro operacional	Nível empregado
Temperatura de saída (°C)	100,00
Vazão do ar de atomização (L/minuto)	04,00
Vazão do ar de secagem (m ³ /hora)	27,83
Vazão de alimentação do extrato (mL/minuto)	04,00

Obtenção dos perfis termogravimétrico, espectroscópico e cromatográfico

Perfil termogravimétrico

O extrato fluido seco por nebulização de *S. officinale* foram analisado e as curvas termogravimétricas foram obtidas em um analisador térmico Shymadzu nas seguintes condições: Razão de aquecimento - 5°C/min.; Peso da amostra - aproximadamente 8 mg; Atmosfera - nitrogênio; Fluxo - 25,00 mL/min; Material da célula - platina.

Perfil espectroscópico

Os extratos fluido liofilizado e seco por nebulização de *S. officinale* foram analisados e os espectros foram obtidos com o uso de um aparelho de infravermelho com transformador de Fourier (FTIR) da marca Nicolet, modelo Proteje 460. As leituras foram realizadas em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . Quantidades apropriadas da droga vegetal foram comprimidas com KBr.

Perfil cromatográfico

Os perfis cromatográficos dos extratos fluido liofilizado e seco por nebulização foram obtidos em cromatógrafo da Marca Varian Pro-star, detector UV-visível, com operação em 218 nm, injeção manual em um loop de 20 μL , sobre uma coluna analítica Merck[®] ODS (4,6 mm x 250 mm). O processo de desenvolvimento foi realizado utilizando como fase móvel tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 4,0, com um fluxo de 0,5 mL/m^{-1} .

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise do teor de etanol no extrato fluido de *S. officinale* por picnometria mostrou um teor médio de 26,83 % (v/v) \pm 1,04.

A Figura 1 mostra os produtos da secagem do extrato fluido, com e sem a adição do adjuvante de

secagem escolhido, a hidroxietilcelulose. O rendimento médio da operação de secagem por *spray drying* foi de 20%.

A determinação de etanol nas amostras destiladas do extrato fluido de *S. officinale*, além da importância para a caracterização da preparação, visa também garantir condições seguras durante a operação de secagem do material.

Na Figura 1A observa-se o aspecto de “melão” apresentado pelo extrato seco sem o acréscimo de adjuvantes de secagem. A elevada viscosidade do material se deve provavelmente à presença de uma quantidade considerável de açúcares de baixo peso molecular na preparação o que constitui característica comum nesse tipo de preparação. As Figuras 1B, 1C e 1D mostram o extrato fluido de *S. officinale* seco com a adição de hidroxietilcelulose em concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5%, respectivamente. Nota-se claramente que, com o aumento da concentração do adjuvante de secagem há uma diminuição da viscosidade do material sem que, no entanto, se observe o desprendimento do material da superfície do vidro. Esse é, provavelmente, efeito do polímero sobre a temperatura de transição vítrea da mistura dos constituintes químicos do extrato (em especial açúcares). A formulação contendo 1,5 % de HEC (Figura 1D), apresenta aspecto visual mais fosco e uma reduzida viscosidade em relação às outras formulações, e por isso foi escolhida para a secagem em *spray drying*, possibilitando uma melhor recuperação do produto

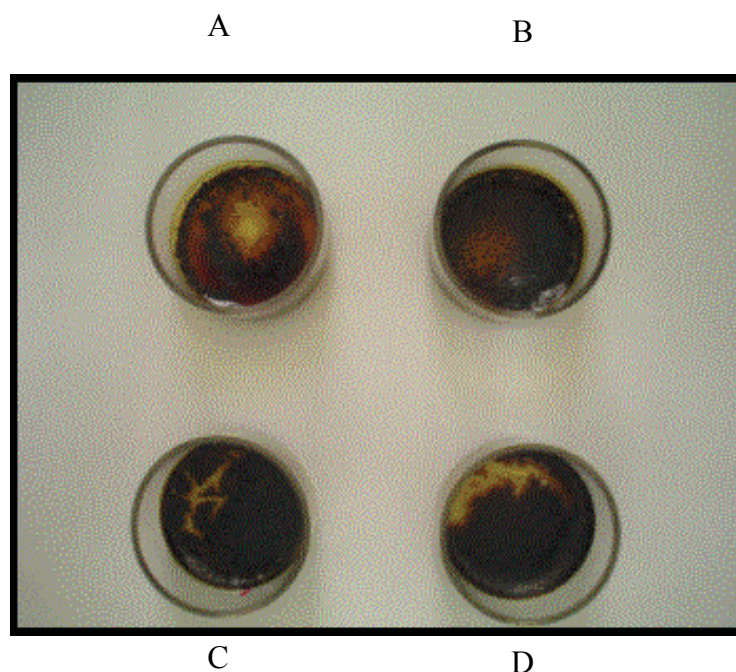


Figura 1. Secagem em estufa do extrato fluido de *Symphytum officinale* (A) extrato sem adição de adjuvantes; (B) extrato com HEC a 0,5%; (C) extrato com HEC a 1,0 %; (D) extrato com HEC a 1,5%.

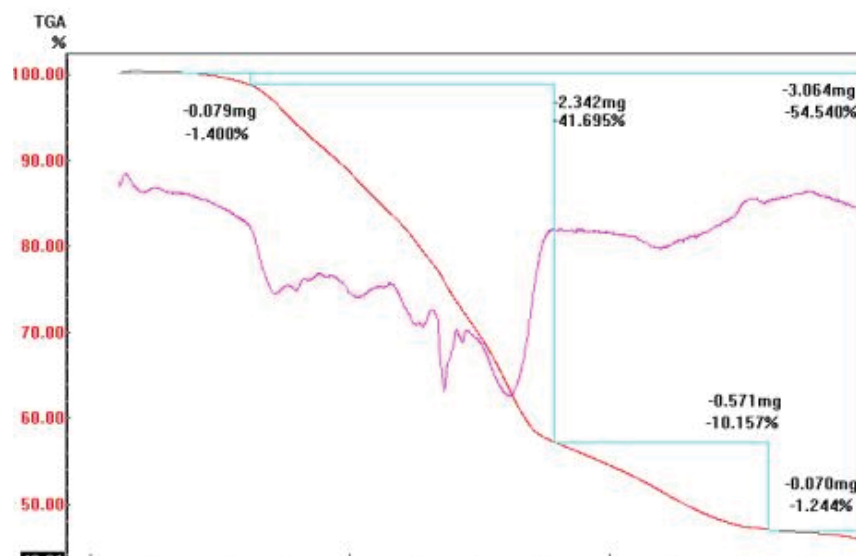


Figura 2. Curva TG do extrato fluido liofilizado de *Symphytum officinale*

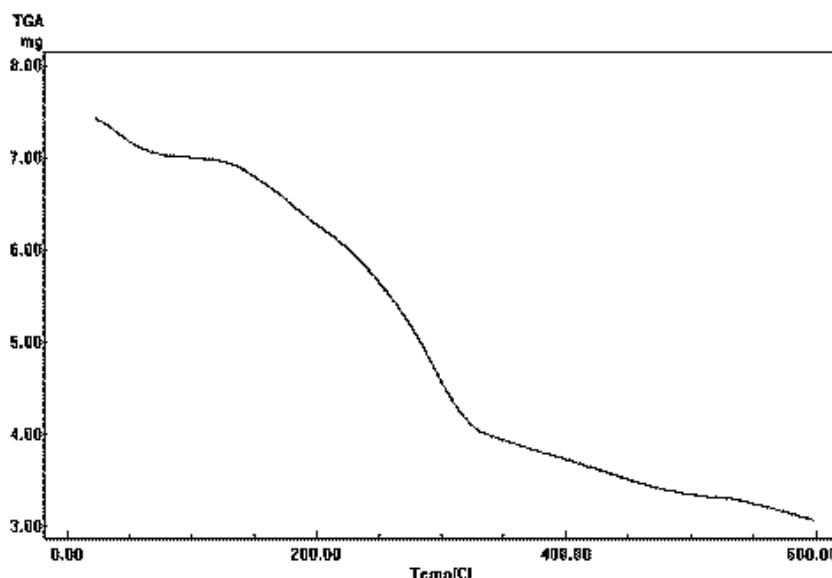


Figura 3. Curva TG do extrato seco por nebulização de *Symphytum officinale*.

durante seu processamento.

Dessa forma, e direcionado pelas características desejadas para o produto final, optou-se por não adicionar quantidades superiores do referido adjuvante ou mesmo qualquer quantidade de outro adjuvante de secagem à preparação.

A otimização dos parâmetros de secagem como temperaturas de entrada e saída, velocidade de fluxo de alimentação, concentração e tipo de adjuvante tecnológico, assim como os teores de resíduo seco do extrato fluido a nebulizar são fatores indispensáveis para obtenção de extratos secos com melhores características físico-químicas e aumento do rendimento da operação (Gaudy et al., 1991; Paula et al., 1998, Vasconcelos et

al., 2005).

Os cálculos referentes ao teor de etanol na preparação vegetal foram empregados juntamente com o valor encontrado para a vazão de ar no *spray drier* (Tabela 1), no intuito de determinar uma vazão de extrato segura para a secagem do extrato fluido hidroetanólico de *S. officinale*. Segundo List & Schmidt (1989), a faixa de inflamabilidade do etanol no ar sob pressão atmosférica é de 3,0 a 15 %. Se a concentração do referido solvente estiver dentro dessa faixa durante a secagem do material, a operação é revestida de um alto risco de explosão. Com base nessa assertiva programou-se uma vazão de 4,0 mL de extrato por minuto (Tabela 1), o que garantiu a manutenção de uma concentração de etanol dentro

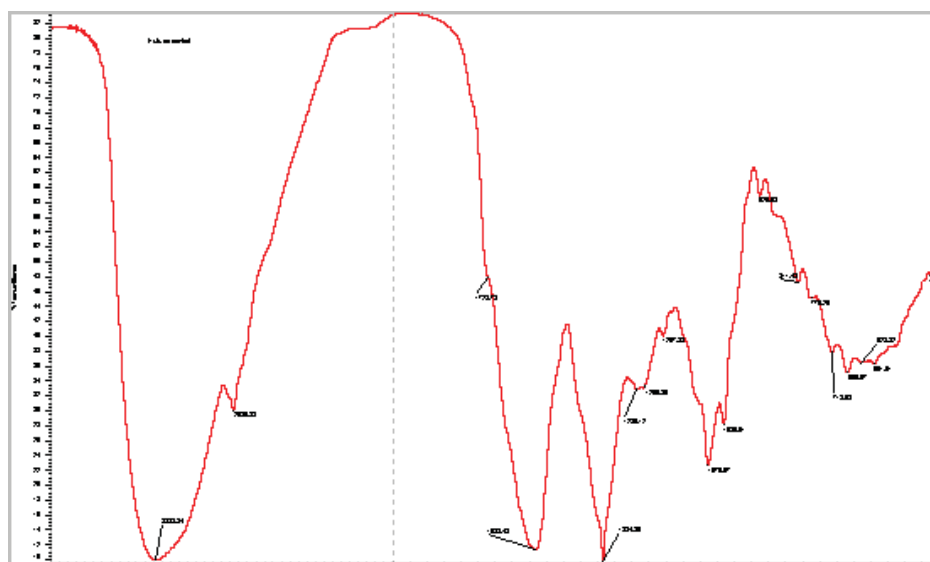


Figura 4. Espectro na região do infravermelho do extrato fluido liofilizado de *Symphytum officinale*.

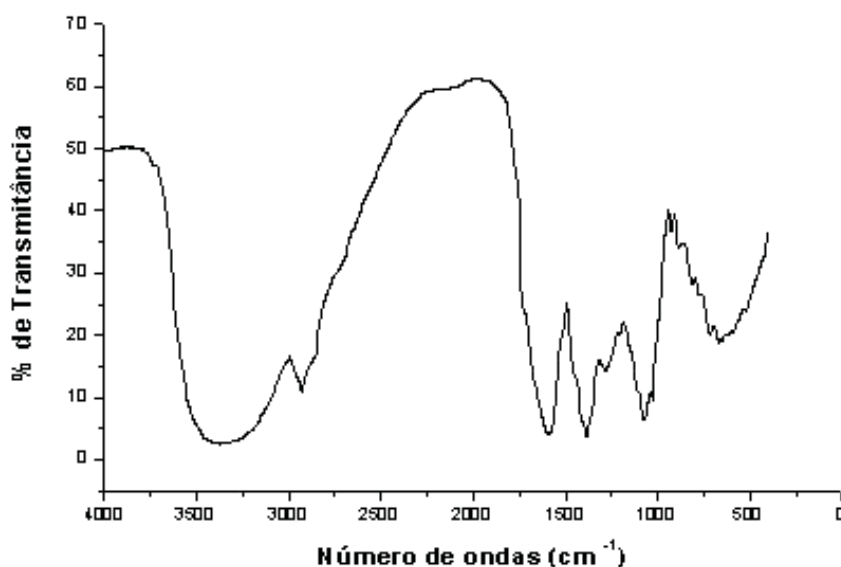


Figura 5. Espectro IV do extrato seco por nebulização de *Symphytum officinale*.

da câmara de secagem sempre muito abaixo do limite inferior de inflamabilidade do solvente (Kirk, 1994).

De acordo com a curva termogravimétrica do extrato fluido liofilizado observa-se até 145 °C uma perda de massa de 1,400%, no intervalo de 150 °C a 350 °C ocorre uma perda acumulada de 41,695%, que atinge 54,540% até 600 °C (Figura 2).

O resultado obtido no ensaio gravimétrico de perda por dessecação para o extrato fluido de *S. officinale* no valor de 8,83% está entre os valores observados pelas curvas TGA no intervalo de temperatura de interesse, mostrando que a termogravimetria pode fornecer uma

estimativa do conteúdo de água residual presente no material após seu preparo.

A decomposição térmica do extrato seco se inicia por volta de 120 °C com um percentual de perda de massa de 58% ao final a uma temperatura de 600 °C. Observou-se também uma série de eventos na região de 120 °C a 320 °C que podem ser atribuídos a decomposição de matéria orgânica (Figura 3).

Os espectros dos extratos fluido e seco (Figuras 4 e 5) apresentaram fortes absorções na região de 3500-3200 cm^{-1} sugerindo a presença de hidroxilas. Absorções na região de 1700-1600 cm^{-1} sugerem também a presença

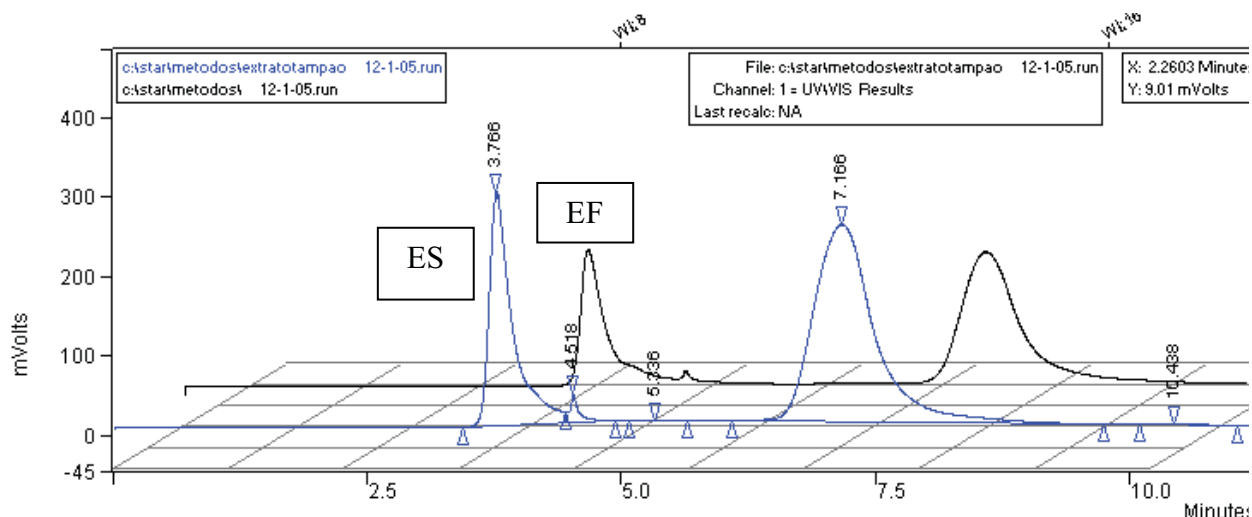


Figura 6. Perfis cromatográficos obtidos dos extratos fluido (EF) e seco (ES) de *Symphytum officinale* por cromatografia líquida de alta eficiência.

de carbonilas. A faixa compreendida de 1100 – 1331 cm^{-1} (éteres), sugerem a presença de uma ampla classe de metabólitos secundários (flavonóides, cumarinas, antraquinonas, alcalóides quinolínicos e quinolônicos e outros fenil propanóides).

Conforme cromatograma apresentado na Figura 6, podemos observar que os extratos fluido e seco apresentaram um perfil químico semelhantes sugerindo que provavelmente o procedimento de secagem não tenha interferido na integridade de seus constituintes, entre eles a alantoina.

Nos extratos fluido e seco de *S. officinale* analisados por cromatografia líquida de alta eficiência detectou-se a alantoina, com tempo de retenção de 4,518 min. (Figura 6). Nas condições analíticas empregadas, a substância pura apresentou um tempo de retenção em torno de 4,32 min. Conforme demonstrou o valor da regressão da curva obtida para alantoina, existe linearidade no intervalo de concentração analisado, permitindo assim, o doseamento desta substância por CLAE.

CONCLUSÃO

O procedimento de secagem do extrato fluido de *Symphytum officinale* por nebulização mostrou que a utilização de hidroxietilcelulose como adjuvante de secagem, na concentração de 1,5%, propicia uma melhor recuperação do produto seco durante seu processamento. Os perfis térmicos, espectrais por ultravioleta e cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência apresentaram-se semelhantes para o extrato fluido liofilizado e para o seco por nebulização sugerindo que o procedimento de secagem não tenha interferido na integridade de seus constituintes, entre eles a alantoina.

AGRADECIMENTOS

Ao Centro Universitário do Pará – CESUPA, pelo auxílio na forma de bolsa concedida.

REFERÊNCIAS

- Alzugaray D, Alzugaray K 1988. *Enciclopédia de Plantas Brasileiras*, São Paulo: Editora três.
- Barbosa WLR 2006. Comunicação pessoal.
- Barbosa-Filho JM, Vasconcelos THC, Alencar AA, Batista LM, Oliveira RAG, Guedes DN, Falcão HS, Moura MD, Diniz MFFM, Modesto-Filho J 2005. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Rev Bras Farmacogn* 15: 392-413.
- Brasil 2004. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretora Colegiada nº 48 de 16 de março de 2004. Aprova o regulamento técnico sobre registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília/DF.
- Chiryat'Ev EA, Rusakova OA 1994. Species of the Siberian flora as sources of direct action antcoagulants. *Rastitel'nye Resursy* 30: 21-28.
- Duarte FR 1984. *Influência de dois tipos de solos sobre o teor total de alcalóides do confrei*. Dissertação de Mestrado, UNESP, Piracicaba.
- Estrela E 1995. *Tratado de Cooperación Amazonica – Secretaria Protempore, Plantas medicinales Amazônicas: Realidad y Perspectivas*, Lima: TCA.
- Falcão HS, Lima IO, Santos VL, Dantas HF, Diniz MFFM, Barbosa-Filho JM, Batista LM 2005. Review of the plants with anti-inflammatory activity studied in Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 15: 381-391.
- Farmacopéia Brasileira 1959. 2.ed. São Paulo: Indústria Gráfica Siqueira.
- Gaudy D, Puech A, Jacob M 1991. Rôle de l'adjuvant dans l'optimization de la production d'un extrait sec vegetal nébulisé: "cas de l'extrait de Noix vomique". *Acta Pharm Helv* 66: 5-10.
- Kirk O 1994. *Encyclopedia of Chemical Technology*. Vol. 9,

- pp.812, 4 edição: John Wiley and Sons.
- List PH, Schmidt, PC 1989. *Phytopharmaceutical Technology*. CRC Press, Florida.
- Matos FJA 1994. *Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades*, 2. Ed., Fortaleza: UFC.
- Morrison EY, West ME 1982. A preliminary study of the effects of some West Indian medicinal plants on blood sugar levels in the dog. *West Indian Med J* 31: 194-197.
- Paula IC, Ortega GG, Bassani VL, Petrovick PR 1998. Development of ointment formulations prepared with *Achyrocline satureoides* spray-dried extracts. *Drug Dev Ind Pharm* 24: 235-241.
- Saito ML, Oliveira F 1986. Confrei - virtudes e problemas. *Rev Bras Farmacogn* 1: 74-85.
- Sener B, Atta-Ur R 1994. Recent results in the search of bioactive compounds from turkish medicinal plants. *Pure Appl Chem* 66: 2295-2288.
- Soares IC, Nicoletti MA, Conciglieri VO 1986. Incorporação de extrato f,luído de *Symphytum officinale* L. em cremes evanescentes. *Rev Bras farmacogn* 1(Supl.): 42.
- Toledo ACO, Duarte MR, Nakashima T 2003. Análise farmacognóstica da droga e do extrato flúido das folhas de *Symphytum officinale* L. (Boraginaceae). *Rev Bras Farmacogn* 13(Supl. 2): 1-2.
- Toledo ACO, Duarte MR, Nakashima T 2006. Caracterização morfoanatômica de raízes e rizomas de *Symphytum officinale* L. (Boraginacea). *Rev Bras Farmacogn* 16: 185-191.
- Vasconcelos EAF, Medeiros MGF, Raffin FN, Moura TFAL 2005. Influência da temperatura de secagem e da concentração de Aerosil® 200 nas características dos extratos secos por aspersão da *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), *Rev Bras Farmacogn* 15: 243-249.