

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Caracterização e padronização de matéria-prima vegetal (droga e solução extrativa)
a partir da espécie vegetal *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato)

Aluna (voluntária): Lorena Martins Sampaio

MANAUS

2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB-S/0091/2014

Caracterização e padronização de matéria-prima vegetal (droga e solução extrativa)
a partir da espécie vegetal *Uncaria tomentosa* (unha-de-gato)

Aluna (voluntária): Lorena Martins Sampaio
Orientadora: Prof^a Dr^a Tatiane Pereira de Souza

MANAUS

2015

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas e aos seus atores.

Esta pesquisa foi desenvolvida pelo Laboratório de Inovação e Desenvolvimento em Tecnologia Farmacêutica (LIDETEF) da Faculdade de Ciências Farmacêuticas.

RESUMO

Uncaria tomentosa é uma espécie vegetal popularmente conhecida no Brasil como unha-de-gato e possui uma longa história de usos na medicina popular. Inúmeros trabalhos científicos têm comprovado o grande potencial farmacológico dessa planta, destacando-se importantes propriedades anti-inflamatórias, citotóxicas e imuno-estimulantes. Nesse contexto, *U. tomentosa* destaca-se como uma promissora espécie vegetal para o processamento tecnológico e desenvolvimento de fitoterápicos, sendo que são poucos os estudos que apresentam métodos seguros para determinação da qualidade desta matéria-prima vegetal e formas farmacêuticas derivadas. Desta forma, o presente estudo tem como objetivo caracterizar a matéria-vegetal (droga e solução extrativa) de *Uncaria tomentosa*, visando estabelecer parâmetros para o controle de qualidade. Para isso, as cascas de *Uncaria tomentosa* foram secas em estufa de ar circulante a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 7 dias e posteriormente trituradas em moinho de facas. A matéria-prima foi caracterizada através dos ensaios de perda por dessecação em estufa de ar circulante, análise granulométrica do pó por tamisação e teor de extrativos por método gravimétrico. Em seguida, procedeu-se a elaboração das soluções extrativas seguindo um planejamento fatorial 2^3 , onde as variáveis independentes foram: relação droga:solvente (5,0 e 10,0%); concentração de etanol (50,0 e 100,0 %) e método de extração (maceração e decocção sob refluxo), fixando-se o tempo de extração de 8 horas para maceração e de 15 minutos para decocção, sendo a variável dependente o resíduo seco. Desta forma, prepararam-se 8 soluções extrativas que foram avaliadas quanto ao teor de resíduo seco, determinando-se o melhor método de extração para esta espécie vegetal. A matéria-prima vegetal apresentou teor de umidade em torno de 7,68g% ($\pm 0,07$) e teor de extrativos em torno de 10,72g% ($\pm 0,12$). A análise granulométrica da matéria-prima vegetal demonstrou que mais de 35g% ($\pm 1,34$) das partículas apresentaram granulometria abaixo de 250 μm . A solução extrativa utilizando 10% de matéria-prima vegetal, 50% de etanol em decocção, sob refluxo, durante 15 minutos, apresentou o melhor extração dentre todas as soluções extrativas avaliadas, com um teor de resíduo seco em torno de 1,37g% ($\pm 0,009$). De acordo com as variáveis independentes estudadas, o planejamento fatorial aplicado, indicou a decocção, sob refluxo, como o método mais eficiente para a extração da substâncias presente na matéria-prima vegetal de *U. tomentosa*.

Palavras-chave: *Uncaria tomentosa*, caracterização, decocção, planejamento fatorial.

ABSTRACT

Uncaria tomentosa, popularly called as cat's claw in Brazil, is widely used in folk medicine. Several studies have been proven its great pharmacological potential, specially due to its anti-inflammatory, cytotoxic and immunomodulatory activities. In this context, *U. tomentosa* stands out as a promising plant species for technological processing and development of herbal medicines, since there are few studies that propose secure methods to determine the quality of raw materials and its pharmaceutical forms. This study aims to characterize both vegetable raw material of *U. tomentosa* as its ethanolic and hydroethanolic extracts, establishing parameters for its quality control. Peels of *U. tomentosa* were dried in a circulating air oven at 40 ± 2 °C for 7 days and subsequently crushed in a mechanical mill. The raw material was characterized according to the moisture content, powder particle size analysis and extractives content. Then, a 2^3 factorial design, replicated, was conducted to determine the best extractive conditions. The studied independent variables were: drug:solvent ratio (5.0 or 10.0%), concentration of ethanol (50.0 or 100.0%) and extraction method (maceration for 8 hours or decoction for 15 minutes under reflux). The dependent variable was the dry residue. The vegetable raw material showed $7.68 \pm 0.07\%$ of moisture and $10.72 \pm 0.12\%$ of extractive content. The granulometric analysis showed that more than 35% (± 1.34) of the raw material plant had particle size below 250 micrometers. According to the 2^3 factorial design, 8 extractive solutions were performed, but the one obtained with 10% of vegetable raw material, 50% of ethanol and decoction under reflux for 15 minutes yielded the highest dry matter content ($1.37 \pm 0.01\%$) among all evaluated extractive solutions. The factorial design applied in optimizing the extraction process indicated the decoction under reflux as the most efficient method for the extraction of soluble substances in hydroethanol solution. The method of extraction and liquid extractor water: ethanol 50% were the most important factors, considering the dry matter content of each solution.

Keywords: *Uncaria tomentosa*, characterization, decoction, factorial design.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Tratamento da droga e obtenção da MPV. (A) Cascas de <i>Uncaria tomentosa</i> (B) Secagem da droga vegetal em estufa com circulação e renovação de ar. (C) MPV de <i>Uncaria tomentosa</i> ..	14
Figura 2 - Soluções extrativas	20
Figura 3 - Análise granulométrica por tamisação. (A) Histograma de Distribuição granulométrica da MPV. (B) Gráfico de retenção e passagem da MPV	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Modelo fatorial para avaliação de parâmetros extrativos	16
Tabela 2 - Resultados da caracterização da MPV	19
Tabela 3 - Soluções extrativas obtidas empregando-se o modelo fatorial e seus respectivos teores de resíduo seco	20
Tabela 4 - Resultados da caracterização da solução extrativa padronizada.....	23

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	9
2. OBJETIVOS	11
2.1 Geral	11
2.2 Específicos	11
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
3.1 Plantas medicinais e fitoterapia	12
3.2 <i>Uncaria tomentosa</i>	13
4. METODOLOGIA	14
4.1 Material Vegetal	14
4.2 Tratamento da droga e preparação da matéria-prima vegetal	14
4.3 Caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)	14
4.3.1 Determinação de perda por dessecação	14
4.3.2 Análise granulométrica por tamisação	15
4.3.3 Teor de extrativos	15
4.4 Avaliação de parâmetros extrativos para obtenção da solução extrativa	16
4.5 Caracterização da solução extrativa padronizada	17
4.5.1 Resíduo seco	17
4.5.2 Determinação da Densidade Relativa	17
4.5.3 Determinação do pH	18
4.6 Análise dos dados	18
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	19
5.1 Caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)	19
5.2 Avaliação de parâmetros extrativos para obtenção da solução extrativa	20
5.3 Caracterização da solução extrativa padronizada	23
6. CONCLUSÃO	24
REFERÊNCIAS BILIOGRÁFICAS	26

1. INTRODUÇÃO

O protocolo de avaliação de uma matéria-prima vegetal, além de uma rigorosa identificação botânica, deve incluir técnicas de avaliação físico-químicas, tais como, a determinação do teor de umidade, teor de extrativos, ensaios de pureza, bem como determinação quali e quantitativa de sua constituição química e análise microbiológica (WHO, 1998; BRASIL, 2010; F. Bras. V, 2010). No entanto, apesar da maioria das farmacopeias e outros códigos oficiais descreverem o procedimento de realização desses ensaios, ainda são poucas as plantas medicinais que possuem monografias contendo as especificações e ou limites de cada parâmetro analisado a fim de garantir a qualidade da droga vegetal e produtos derivados, o que somente pode ser conseguido através de um rigoroso estudo de caracterização da droga vegetal, obtida em diferentes épocas do ano, se possível em distintas condições de plantio e ou locais de coleta a fim de determinar a influência da sazonalidade nas propriedades da droga vegetal. Além disso, é sabido que devido à planta medicinal tratar-se de uma matriz biológica, há a necessidade da verificação da adequação de cada ensaio de acordo com a espécie vegetal trabalhada.

Outra problemática é a carência no mercado nacional e, até mesmo mundial, de extratos padronizados e ou normalizados, oriundos de espécies vegetais, reconhecidamente detentoras de substâncias ativas vegetais. Fato este, dificultado pela falta de material vegetal em abundância e qualidade; além da dificuldade do estabelecimento de especificações e padronização considerando que a constituição química e as características da matéria-prima dependem tanto de fatores agrônômicos quanto tecnológicos, relacionados aos procedimentos empregados na transformação de uma droga vegetal em um medicamento. Tais condições dificultam a caracterização da droga vegetal, podendo suas propriedades variar de acordo com a origem e o processamento do vegetal, e conseqüentemente, dificultando o desenvolvimento de extratos padronizados e ou normalizados que possam ser utilizados como produto intermediário para obtenção um medicamento fitoterápico com eficácia e segurança comprovada (MAGALHÃES, 1997; LIST e SCHMDT, 1989; FARIAS, 2003; MIGLIATO *et al.*, 2007).

A produção de um fitoterápico, assim como todo o medicamento, requer um rigoroso estudo, em todas as etapas de produção, a fim de garantir a qualidade da

forma farmacêutica final e, apesar das dificuldades, há um consenso mundial da necessidade de se estabelecer métodos e parâmetros que permitam mensurar e avaliar as propriedades físico-químicas e tecnológicas dos fitoterápicos.

Outra etapa importante na preparação de um medicamento de origem vegetal é a operação de extração. Normalmente, a seleção do tipo de solvente empregado está baseada no grupo de substância responsável pela atividade biológica, entretanto, quando esse dado não é conhecido, a escolha do solvente pode basear-se em estudos etnofarmacológicos e clínicos (LIST e SCHMDT, 1989). Os líquidos extratores mais empregados são misturas de solventes, tais como: etanol, metanol ou acetona com água, no entanto estudos devem ser realizados visando aumentar o rendimento na extração das substâncias de interesse, sempre considerando sua solubilidade e estabilidade (VOIGT, 2000).

Uncaria tomentosa, conhecida popularmente como unha de gato, é originária da Floresta Amazônica, apresenta relatos de sua utilização para diversos problemas de saúde: tratamento da asma, reumatismo, artrite, inflamação, gastrite, tumores cancerígenos, doenças infecciosas, bem como irregularidades do ciclo menstrual (KEPLINGER *et al.*, 1999).

Alguns trabalhos científicos comprovam a eficácia de extratos oriundos dessa espécie vegetal em tratamentos anti-inflamatórios (EROWELE & KALEJAIYE, 2009; ROJAS-DURAN *et al.*, 2012) e estudos fitoquímicos revelam a presença de alcaloides indólicos, antocianidinas e ácidos triterpênicos como constituintes majoritários dessa espécie vegetal (WAGNER *et al.*, 1985; ALONSO, 1998).

Embora, esta espécie vegetal apresente ampla utilização na medicina popular e comprovação de sua eficácia terapêutica, são raros os estudos que apresentem métodos seguros para determinação da qualidade da matéria-prima vegetal, bem como são escassos no mercado produtos padronizados que possam ser utilizados com segurança e garantia de qualidade.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar a matéria-vegetal (droga e solução extrativa) de *Uncaria tomentosa*, visando estabelecer parâmetros para o controle de qualidade.

2.2 Específicos

- Obter e caracterizar o material vegetal de *Uncaria tomentosa*;
- Verificar a influência de parâmetros extrativos na obtenção de soluções extrativas a partir da droga vegetal;
- Caracterizar as soluções extrativas obtidas;
- Estabelecer parâmetros de qualidade para matéria-prima vegetal de *U. tomentosa*, tanto enquanto droga como solução extrativa.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Plantas medicinais e fitoterapia

A utilização de plantas medicinais é praticada desde os primórdios da civilização humana. O homem encontrou formas de aproveitar os princípios ativos fornecidos pelas plantas baseando-se em descobertas ao acaso (MACIEL *et al.*, 2002). No que se refere especificamente à Amazônia, apesar de ainda haver muito a ser explorado, há um crescente aumento de estudos relacionados a algumas propriedades curativas dos vegetais, e os pesquisadores presentes nesta linha de pesquisa muito contribuem em divulgar informações sobre as espécies utilizadas na medicina popular (SILVA, 2002).

No geral, as plantas apresentam diversos princípios ativos em sua constituição, de modo que os mesmos podem variar em determinadas época do ano, ou ainda, em determinadas partes da planta (MAPA, 2007). Para que os princípios ativos presentes nas plantas sejam aproveitados adequadamente, faz-se necessária a execução de procedimentos corretos. Assim, as substâncias vegetais devem estar em formas padronizadas, com a caracterização de seus constituintes químicos, fornecendo os requisitos de qualidade, segurança e eficácia necessários (ARNOUS *et al.*, 2005; BRASIL, 2014).

De acordo com a Instrução Normativa nº 4, de 18 de junho de 2014, fitoterápicos são medicamentos constituídos de Insumos Farmacêuticos Ativos Vegetais (IFAV) que devem atender especificações de qualidade, segurança e eficácia. Assim, a matéria prima vegetal é o fator de maior importância no processamento de produtos à base de plantas vegetais. As plantas apresentam substâncias químicas que podem variar devido à influência de múltiplos fatores (origem, secagem e condições de estocagem). Desta forma, o material vegetal bruto deve ser processado a fim de se obter um extrato que contenha substâncias ativas que garantam sua eficácia e que possam ser utilizados como produto intermediário na obtenção de fitoterápicos (MACIEL *et al.*, 2002).

3.2 *Uncaria tomentosa*

Uncaria tomentosa, conhecida popularmente como Unha-de-gato ou Arranha-gato, é uma planta trepadeira de grandes dimensões que pode atingir até 30m de altura e muito estudada sob o enfoque químico devido à presença de alcaloides do tipo oxindólico, para os quais são relatadas várias atividades farmacológicas (SANDOVAL, 2002).

Através de investigações químicas realizadas por Wagner *et al.*, (1985) e Alonso (1998), foram descobertos 6 alcaloides oxindólicos pentacíclicos nessa espécie vegetal: rinocofilina, mitrafilina, isoteropodia A, pterodifina, isorincofilina, isomitrafilina e também outros alcaloides como: Fmitrafilina, hisurteína, hisurtina, dihidrocorianteína, uncarina, isopteropodina A.; Glicosídeos oxindólicos e Triterpenos do Ácido Quínico.

Dentre as características farmacológicas atribuídas a essa espécie vegetal, destacam-se propriedade antioxidante e imunoestimulante, relacionadas à alta concentração de flavonoides que atuam contra espécies reativas de oxigênio, diminuindo o estresse oxidativo no processo inflamatório (WILLIAMS, 2001).

Além disso, ensaios farmacológicos têm sido realizados para comprovar que estes alcaloides produzem um grande aumento da fagocitose eliminando as bactérias e corpos nocivos. Em estudo realizado por Wagner *et al.*, (1985) foi constatado ainda que o extrato aquoso etanólico da *Uncaria tomentosa* apresenta atividade citostática, contraceptiva e anti-inflamatória, sendo utilizada no tratamento de câncer e na displasia da cérvix, na doença de Crohn, endometriose, em diverticulite, esclerose múltipla, fibromialgia e lúpus eritematoso sistêmico (GAMA *et al.*, 2010).

4. METODOLOGIA

4.1 Material Vegetal

Cascas de *Uncaria tomentosa* foram obtidas comercialmente da loja Produtos Naturais Dr. Juan (Manaus-AM), seca e rasurada, em pacotes de 500 g e 750 g.

4.2 Tratamento da droga e obtenção da matéria-prima vegetal

A droga vegetal adquirida foi retirada da embalagem comercial e deixada à temperatura ambiente por 48 horas e, posteriormente, levada à estufa com circulação e renovação de ar (modelo SL 102 da SOLAB), à temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 7 dias consecutivos para secagem complementar. Após a secagem, as cascas foram retiradas da estufa e cominuidas em moinho de facas. O material vegetal moído foi devidamente identificado e armazenado em embalagem adequada, obtendo-se assim a matéria-prima vegetal (MPV) de *Uncaria tomentosa* (Figura 1) para ser utilizada no presente estudo.



Figura 1 - Tratamento da droga e obtenção da MPV. (A) Cascas de *Uncaria tomentosa* adquiridas comercialmente (B) Secagem da droga vegetal em estufa com circulação e renovação de ar. (C) MPV de *Uncaria tomentosa*.

FONTE: Autores

4.3 Caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)

4.3.1 Determinação de perda por dessecação

Cerca de 1 g de MPV foi exatamente pesado em pesa filtro, previamente tarado. Após pesagem foi colocado em estufa (modelo SL 102 da SOLAB) à temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 horas, após esse período foi retirado da estufa e

colocado em dessecador, por 20 minutos, e devidamente pesado em balança analítica (modelo AY220 da Shimadzu), depois foi novamente colocado em estufa por mais uma hora, retirado e colocado em dessecador por mais 20 minutos e pesado. Esse procedimento foi repetido até atingir peso constante. Depois disto foi calculada a diferença de peso entre mostra inicial e a final determinando-se a umidade da matéria prima vegetal. O ensaio foi realizado em triplicata (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

4.3.2 Análise granulométrica por tamisação

Cerca de 50g da matéria-prima vegetal foram exatamente pesadas em balança analítica e submetidas à passagem através de tamises com abertura de malhas de 1,00; 0,850; 0,710; 0,600; 0,500; 0,425; 0,355; 0,250 mm utilizando-se um tamisador (BERTEL) com velocidade controlada a 60 vibrações por segundo durante 15 minutos. As frações retidas em cada tamis foram pesadas em balança analítica. Realizou-se este procedimento em triplicata e tirou-se uma média dos valores obtidos. Os dados foram analisados por método gráfico, construindo-se curva de retenção e passagem, e histograma de distribuição, obtendo-se o diâmetro médio das partículas (VOIGT, 2000).

4.3.3 Teor de extrativos

Cerca de 1g da matéria-prima vegetal foi colocada em um erlenmeyer juntamente com 100 mL de água destilada, pesando-se o conjunto. O erlenmeyer foi colocado em manta aquecedora e submetido ao processo de extração por decocção durante 10 minutos. Após resfriamento, o erlenmeyer foi novamente pesado e reconstituiu-se o peso inicial antes da evaporação. Realizou-se o processo de filtração e os primeiros 20 mL de filtrado foram desprezados. Cerca de 20 g do filtrado foi exatamente pesado diretamente em pesa-filtro, previamente tarado, e colocado em banho-maria até completa evaporação. Após secura completa, o resíduo foi colocado em estufa à temperatura de $105^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 2 horas. Em seguida, foi resfriado em dessecador por 20 minutos e pesado. Este procedimento foi realizado até a obtenção do peso constante (BUNDESVEREINIGUNG, 1986). O resultado foi expresso pela média de três determinações e o teor de extrativos foi calculado segundo a equação (1) abaixo:

$$TE = \frac{g \times FD}{m - (m \times \frac{pd}{100})} \times 100 \quad (1)$$

Onde: TE = teor de extrativos (% m/m); g = massa do resíduo seco (g); FD = constante, igual a 5; m = massa da amostra inicial (g); pd= perda por dessecação da amostra (% m/m)

4.4 Avaliação de parâmetros extrativos para obtenção da solução extrativa

As soluções extrativas foram elaboradas seguindo um planejamento fatorial 2^3 , onde as variáveis independentes foram: relação droga:solvente; concentração de etanol e método de extração (Tabela 1), e a variável dependente foi o resíduo seco. O tempo de extração foi fixado fora do fatorial, adotando-se (8h) para maceração e (15 minutos) para decocção sob refluxo. Desta forma, foram preparadas 8 soluções extrativas (Figura 2), sendo que a variável de resposta estudada foi o resíduo seco das soluções extrativas obtidas.

Fatores	Níveis
A) Droga:solvente	5 % (-) 10 % (+)
B) Concentração de etanol	50 % (-) 100 % (+)
C) Método de extração	Maceração (-) Decocção sob refluxo (+)

Tabela 1- Modelo fatorial para avaliação de parâmetros extrativos.



Figura 2 - Soluções extrativas.
 FONTE: Autores

A solução extrativa que apresentou maior teor de resíduo seco foi considerada a melhor extração e, portanto, chamada de solução extrativa padronizada.

4.5 Caracterização da solução extrativa padronizada

4.5.1 Resíduo seco

Uma alíquota de 20,00 mL de solução extrativa foi exatamente pesada em pesa-filtro previamente tarado, e evaporada até secura em banho-maria a 100 °C. O resíduo contido no pesa-filtro foi colocado em estufa a 105 °C \pm 1 °C por 2 horas, em seguida, foi colocado em dessecador por 20 minutos e pesado. Após isto, o pesa-filtro contendo resíduo foi colocado novamente em estufa nas condições de temperatura supracitadas por 1 hora e em dessecador por 20 minutos para posterior pesagem. Este procedimento foi realizado a cada 1 hora até atingir peso constante. O ensaio foi realizado em triplicata. (BUNDESVEREINIGUNG, 1986).

4.5.2 Determinação da Densidade Relativa

Foi realizada em picnômetro de 25 ml, previamente calibrado através da aferição do mesmo vazio e contendo água. Em seguida, foi determinada a massa do picnômetro contendo a solução extrativa. O ensaio foi realizado em triplicata e a

densidade foi calculada segundo a equação (2) (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

$$d_{25}^{25} = \frac{m_{se}}{m_{h_2o}} \quad (2)$$

Onde: d = densidade relativa; m_{se} = massa de solução extrativa; m_{H_2O} = massa da água.

4.5.3 Determinação do pH

Foi determinado em potenciômetro previamente calibrado com solução tampão pH 4,0 e pH 7,0. A leitura foi realizada em triplicada (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

4.6 Análise dos dados

Os resultados obtidos foram expressos por meio de média aritmética e desvio-padrão. O planejamento fatorial foi analisado através de ANOVA *two way* com grau de significância de 0,05

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da matéria-prima vegetal (MPV)

Os resultados de caracterização da matéria-prima vegetal estão expressos a seguir (Tabela 2):

Ensaio	Resultado $\bar{x} \pm s$ (CV%)
Perda por dessecação (g%)	7,68 \pm 0,07 (0,92)
Teor de extrativos (g%)	10,72 \pm 0,12 (1,21)

Tabela 2 - Resultados da caracterização da MPV

A determinação da perda por dessecação indica o teor de umidade do material utilizado. Níveis elevados de umidade podem favorecer o crescimento microbiano e comprometer a estabilidade da MPV. O resultado demonstrou que a matéria-prima utilizada apresentou teor de umidade em torno de 7,68 g%. De acordo com a literatura, o teor de umidade de uma MPV para armazenamento deve estar na faixa de 7 a 14% de umidade (FARMACOPÉIA BRASILEIRA V, 2010).

A determinação do teor de extrativos avalia a eficiência do solvente extrator em extrair os constituintes essenciais da MPV que se deseja obter. O valor do teor de extrativos obtido foi insatisfatório, demonstrando que somente a água não parece ser um bom solvente extrator para esta espécie vegetal. O valor encontrado foi em torno de 10,72 g%.

A análise granulométrica das amostras demonstrou que mais de 35% das partículas apresentaram granulometria abaixo de 250 μm , com diâmetro médio de partículas em torno de 270 μm (Figura 2). A determinação do diâmetro médio de partícula é importante para garantir a reprodutibilidade do processo extrativo uma vez que a superfície de contato entre o líquido extrator e a droga vegetal influencia na extração (LIST e SCHMIDT, 1989). Sendo assim, um diâmetro médio em torno de 500 μm é bastante favorável para a extração dos componentes químicos. Porém, o valor encontrado não é compatível com o valor descrito na literatura, fato que pode

ser atribuído pela textura do material vegetal, ou seja, as cascas de *U. tomentosa* tem uma característica fibrosa que ao ser cominuído no moinho de facas gerou partículas mais finas que as usais.

A avaliação granulométrica do material moído é uma etapa importante para padronização do método extrativo. O estado de divisão da droga tem influência decisiva nos processos de dissolução das substâncias químicas presentes na droga vegetal. Assim, quanto mais fino o pó, melhor será o contato com o solvente e maior será o rendimento da extração. Porém, uma excessiva diminuição do tamanho das partículas pode resultar em dificuldade da passagem do solvente através da droga devido à formação de aglomerados e a diminuição do espaço intersticial, prejudicando o rendimento da extração.

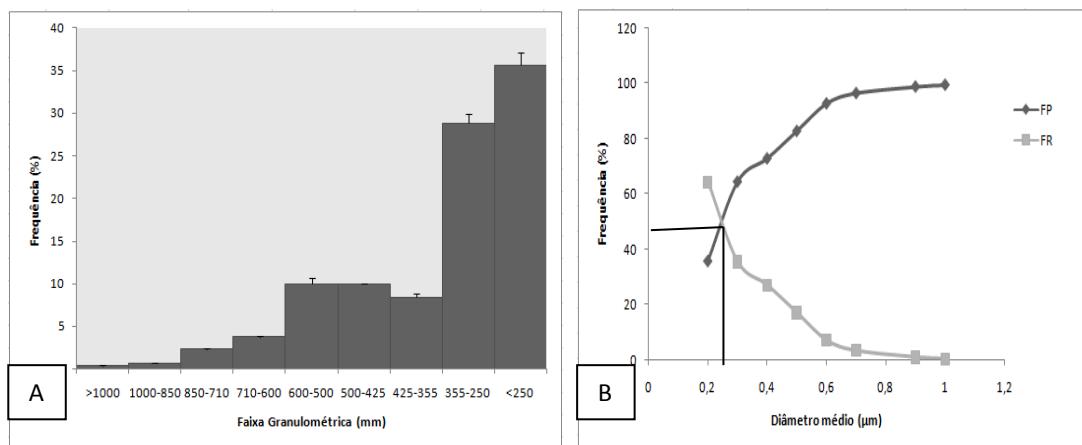


Figura 3 - Análise granulométrica por tamisação. (A) Histograma de Distribuição granulométrica da MPV. (B) Gráfico de retenção e passagem da MPV

5.2 Avaliação de parâmetros extrativos para obtenção da solução extrativa

Na tabela 3 estão descritos os valores de resíduo seco das diferentes soluções extrativas preparadas. E na Figura 4 o diagrama de Pareto correspondente a análise estatística do planejamento fatorial.

Solução	Características	Resíduo Seco (g%) $\bar{x} \pm s$ (CV%)
1	5% (MPV) + 50% (Etanol) + Maceração	0,677 \pm 0,009 (1,429)
2	5% (MPV) + 100% (Etanol) + Maceração	0,261 \pm 0,006 (2,559)
3	10% (MPV) + 100% (Etanol) + Maceração	0,260 \pm 0,005 (2,030)
4	5% (MPV) + 50% (Etanol) + Decocção	0,741 \pm 0,001 (0,202)
5	10% (MPV) + 50% (Etanol) + Decocção	1,373 \pm 0,009 (0,719)
6	5% (MPV) + 100% (Etanol) + Decocção	0,624 \pm 0,004 (0,750)
7	10% (MPV) + 100% (Etanol) + Decocção	0,908 \pm 0,005 (0,582)
8	10% (MPV) + 50% (Etanol) + Maceração	1,216 \pm 0,005 (0,469)

Tabela 3 - Soluções extrativas obtidas empregando-se o modelo fatorial e seus respectivos teores de resíduo seco.

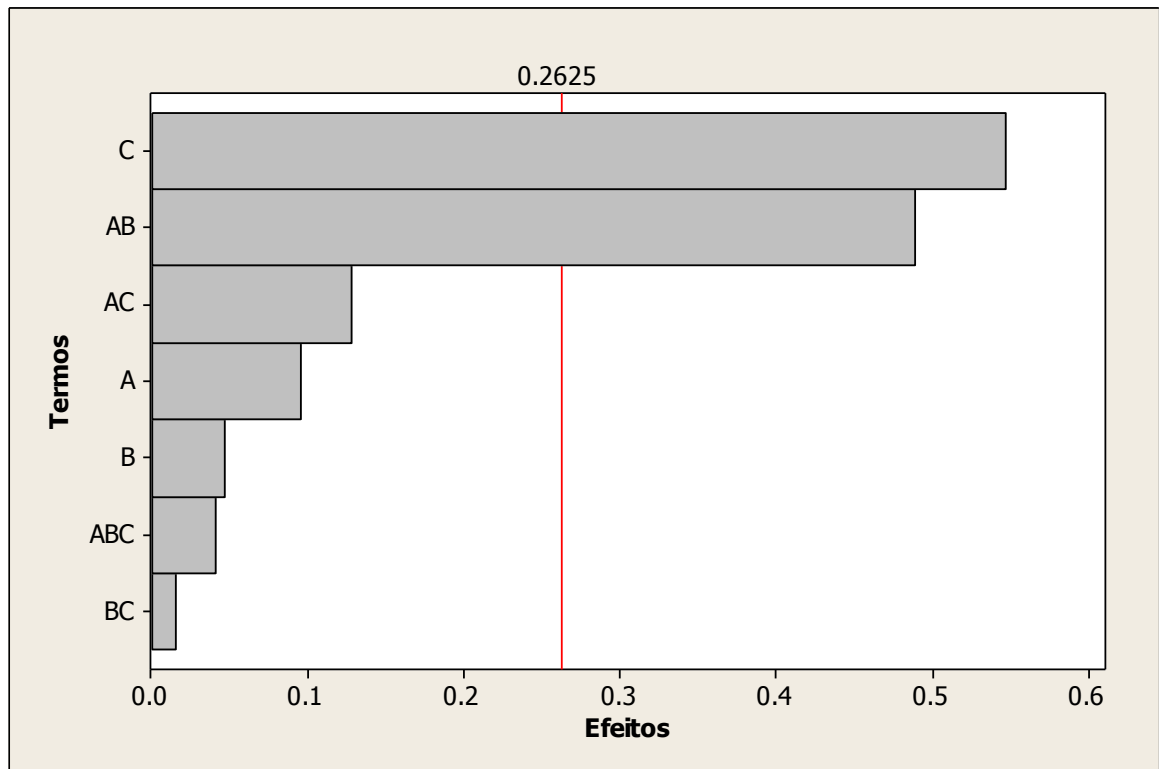


Figura 4 – Diagrama de Pareto correspondente ao planejamento fatorial 2^3 .

O planejamento fatorial é utilizado para se verificar as melhores condições operacionais de um sistema. Os resultados da caracterização das soluções extrativas demonstraram que a solução extrativa 5 obteve o maior resíduo seco que foi de 1,373 g%, ou seja, em 100g de solução extrativa há 1,373 g de sólidos solúveis.

Assim como a granulometria, a polaridade do solvente também influencia na extração, devendo este ser o mais seletivo possível, para que se consiga extrair as substâncias de interesse em quantidades satisfatórias para o estudo químico e/ou biológico. A seletividade do solvente ou misturas destes dependerá do grau de polaridade do grupo que se deseja extrair (PRISTA *et al.*, 1996). Como podemos observar, a utilização de etanol como único solvente extrator, quando comparado ao solvente hidroalcoólico, não demonstrou ser tão eficaz no processo de extração para esta espécie vegetal, visto que as soluções extrativas preparadas apenas com este solvente geraram teores reduzidos de resíduo seco. Assim, as soluções extrativas hidroalcoólicas apresentaram teores de resíduo seco mais elevados. Esta observação fica evidente quando comparamos as soluções 5 e 7; 1 e 2; 3 e 8; e 4 e 7; que possuem os mesmos parâmetros, diferenciando-se entre si, apenas, pelo tipo de solvente utilizado (100 % ou 50% de etanol). Fato este comprovado estatisticamente através do gráfico de Pareto (Figura 4), a qual demonstra que apenas o método de extração foi significativo estatisticamente, havendo também uma interação significativa entre os fatores A (Droga:Solvente) e B (Concentração hidroalcoólica).

Além disso, observou-se que foram obtidos teores de resíduo seco mais elevados quando se empregou decocção sob refluxo durante 15 minutos como método de extração. O método de maceração por 8h só foi mais eficiente quando associado à utilização de solvente hidroalcoólico.

A maceração consiste em colocar a droga em contato com o solvente extrator durante um período de tempo previamente determinado, sendo este revolvido em intervalos regulares. Esta técnica é mais lenta e gera saturação do solvente utilizado, não se tornando possível o esgotamento da droga. Já a decocção é um método extrativo restrito realizado pelo aquecimento concomitante da droga com o solvente. É aplicada para drogas constituídas de substâncias termo-resistentes ou

difícilmente extraíveis, seja pela pequena solubilidade no solvente ou pela grande resistência dos tecidos da droga (tubérculos, raízes e cascas). A melhor eficiência desta técnica de extração para a espécie vegetal utilizada pode ser explicada pelas características do material vegetal, que por ser mais rígido, melhorou o rendimento do processo de extração.

Quando comparamos as soluções 4 e 5, vemos que o aumento de MPV para 10% quase dobrou o teor de resíduo seco obtido. Demonstrando assim, que a utilização de mais MPV é viável nestas condições estabelecidas, pois o rendimento final é aprimorado.

No Brasil encontram-se registrados cerca de 500 medicamentos fitoterápicos, dos quais mais de 70% apresentam-se como formas farmacêuticas sólidas (Carvalho et al., 2008).

A matéria-prima para estes produtos é constituída por extratos secos, os quais dentre as suas vantagens incluem a maior estabilidade química, físico-química e microbiológica, mais fácil padronização, maior concentração de compostos ativos e mais elevada capacidade de transformação em diferentes tipos de formas farmacêuticas sólidas. Os extratos secos são geralmente produzidos a partir de extratos líquidos por métodos de secagem, como por aspersão (*spray drying*). A padronização da solução extrativa de forma adequada reflete diretamente nas características do extrato seco obtido.

Sendo assim, por apresentar maior teor de resíduo seco, o que reflete diretamente o rendimento do processo de secagem, a solução extrativa 5 (10% de MPV + 50% de Etanol + Decocção sob refluxo + 15 min) foi padronizada e caracterizada.

5.3 Caracterização da solução extrativa padronizada

Os resultados da caracterização da solução extrativa padronizada estão expressos a seguir (Tabela 4):

Ensaio	Resultado $\bar{x} \pm s$ (CV%)
Resíduo Seco (g%)	1,373 \pm 0,009 (0,719)
Densidade Relativa	0,949 \pm 0,002 (0,218)
pH	4,95 \pm 0,02 (0,404)

Tabela 4 - Resultados da caracterização da solução extrativa padronizada

A solução extrativa padronizada apresentou teor de resíduo seco em torno de 1,373 g%, ou seja, em 100g de solução extrativa há 1,373 g de sólidos solúveis. O resíduo seco é um importante parâmetro de qualidade, relevante para o conhecimento da massa percentual de substâncias extraídas pelo solvente de extração. A partir deste valor, é possível realizar o planejamento da formulação de produtos secos derivados das soluções extrativas, sobretudo de adjuvantes empregados para otimizar o processo de secagem.

A determinação do pH na solução extrativa é um parâmetro auxiliar para controle da estabilidade, fornecendo indicativos gerais sobre a natureza química do conjunto de compostos presentes em solução. O pH obtido é levemente ácido, variou em torno de 4,95.

A solução extrativa padronizada apresentou densidade relativa em torno de 0,949. Este resultado foi condizente com o esperado, considerando a diferença de densidade da água e do álcool etílico.

6. CONCLUSÃO

A matéria-prima vegetal (MPV) obtida apresentou teor de umidade em torno de 7,68%, teor de extrativos em torno de 10,72% e diâmetro médio de partícula em torno de 270 μ m. A influência dos parâmetros extrativos foi comprovada pelas variáveis utilizadas para padronizar as soluções. O planejamento fatorial aplicado na otimização do processo extrativo indicou a decocção sob refluxo como o método mais eficiente para a extração das substâncias solúveis em solução hidroetanólica. O método de extração e líquido extrator etanol:água 50% foram os fatores mais importantes na eficiência do método de extração, considerando-se o teor de resíduo seco de cada solução.

Diante dos resultados do trabalho, foi possível estabelecer os critérios necessários para a escolha de uma solução extrativa para posterior secagem. Desta forma, sugere-se a combinação das seguintes condições de operação para a otimização do processo de extração da *Uncaria tomentosa*: 50% de etanol na solução extrativa, 10 g de MPV e o emprego do método de decocção sob refluxo durante 15 minutos. Esta solução extrativa padronizada apresentou teor de resíduo seco em torno de 1,373 g%, densidade relativa em torno de 0,949 e pH = 4,95.

Vale ressaltar que o resíduo seco é apenas um parâmetro físico que pode ser utilizado no planejamento de soluções extrativas com características físicas, químicas e biológicas adequadas. A avaliação química da solução extrativa visando estabelecer os constituintes químicos que as compõem é necessária para a sua padronização. Dessa forma, outros estudos são necessários para comparar as propriedades físicas e químicas das soluções extrativas de *Uncaria tomentosa* obtidas, de forma que seja possível garantir a qualidade, segurança e eficácia da sua utilização.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. Revista Espaço para a Saúde, Londrina, v.6, n.2, p.1-6, Junho, 2005.

ALONSO, J. R. Trabalho de Fitomedicina - 1ª edição, Isis edições, Buenos Aires, 1998, Momografia, Peruano de Seguridad social - agosto de 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Ministério da Saúde. Resolução de Diretoria Colegiada nº 14 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2010.

BRASIL. Farmacopéia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 5.ed. Brasília, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. Instrução Normativa n. 4, de 18 de junho de 2014. Determina a publicação do Guia de orientação para registro de Medicamento Fitoterápico e registro e notificação de Produto Tradicional Fitoterápico. Brasília, junho de 2014.

BUNDESVEREINIGUNG Deutscher Apothekerverbände (Hrsg.). Deutscher Arzneimittel - Codex. 1986. Frankfurt: Govi; Stuttgart: Deutscher Apotheker, 1986a. v.1; Codex - Probe 4,9.

Carvalho, A. C. B.; Balbino E. E.; Maciel, A.; Perfeito, J. P. S. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Rev. Bras. Farmacogn. 2008;18(2):314-9.

EROWELE, G.I.; KALEJAIYE, A.O.; Pharmacology and therapeutic uses of cat's claw. American Journal of Health-system Pharmacy 66, 992-995, 2009.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. rev. ampl. Porto Alegre: UFRGS, Florianópolis: UFSC, cap. 12. p. 263 - 288, 2003.

GAMA, C. R. B.; PASSOS, M.D.L.; VARELLA, R. LASMAR, R. GAMA, G.F.; OLIVERIA, L.; DAHER, J. G. L.; PASSOS, M. R. L. GELLER, M. Avaliação Clínica da Uncaria tomentosa no Tratamento e Controle de Lesões Decorrentes de Infecção pelo Vírus Herpes Simplex. DST - J bras Doenças Sex Transm. 22(4): 215-221, 2010.

KEPLINGER, K.; LAUS, G.; WURM, M.; DIERICH, M.P.; TEPPNER, H. Uncaria tomentosa (Willd.) DC. ethnomedicinal use and new pharmacological, toxicological and botanical results. Journal of Ethnopharmacology 64, 23-34, 1999.

LIST, P. H.; SCHMIDT, P. C.; Phytopharmaceutical Technology, Boca Raton: CRC Press, p. 320-334, 1989.

MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, J.V.F. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. *Quim. Nova*, v. 25, n. 3, p. 429-438, 2002.

MAGALHÃES, P. M. O caminho medicinal das plantas: aspectos sobre o cultivo. São Paulo: CPQBA-UNICAMP, 1997.

MIGLIATO K. F.; MOREIRA, R. R. D.; MELLO, J. P. C.; SACRAMENTO, L. V. S.; CORRÊA, M. A.; SALGADO, H. R. N. Controle da qualidade do fruto de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 17: 94-101, 2007.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). Embrapa. Identificação e Tecnologia de Plantas Medicinais da Flora do Clima Temperado. Circular Técnica 61. Pelotas - RS. Dezembro, 2007.

Prista, L. N.; Alves, A. C.; Morgado, R.; Tecnologia farmacêutica, 4ª ed., Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, 1996.

ROJAS-DURAN R *et al.* Anti-inflammatory activity of Mitraphylline isolated from *Uncaria tomentosa* bark. *Journal of Ethnopharmacology* 143, 801-804, 2012.

SANDOVAL, M.; Okuhama, N. N.; Zhang, X. J.; Condezo, L. A.; Lao, J.; Angeles, F. M.; Musah, R. A.; Bobrowski, P.; Miller, M. J. S.; *Phytomedicine* 2002, 9, 325.

SILVA, R.B.L. A etnobotânica de plantas medicinais da comunidade quilombola de Curiaú, Macapá - AP, Brasil. 2002. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém.

USP - The United States Pharmacopoeia. 36. rev. ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, Easton: Mack, 2013.

VOIGT, R. Pharmazeutische Technologie. 7. überarb., 2000.

WAGNER, J. D. A. A importância dos produtos de origem natural no atendimento à saúde. Fórum de Debates - Fitomedicamentos e Produtos Naturais. Brasil-SP, 2002.

WAGNER, H.; KREUTZKAMP, B.; JURCIC, K. The alkaloids of *Uncaria tomentosa* and their phagocytosis stimulating action. *Planta Medica*, v.12, p.419-23, 1985.

WILLIAMS J.E. Review of antiviral and immunomodulating properties of plants of the Peruvian rainforest with a particular emphasis on uña de gato and sangre de grado. *Altern Med Rev*. 6(6): 567-79, 2001.

World Health Organization. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials. Geneve: WHO, 1998.