

# CARACTERIZAÇÃO FARMACÊUTICA E CROMATOGRÁFICA DE DROGAS VEGETAIS DE USO TRADICIONAL NO NORDESTE BRASILEIRO: ESTABELECIMENTO DE IMPRESSÕES DIGITAIS (“FINGERPRINTS”) POR CCD-AE

Janaina Carla Barbosa Machado<sup>1</sup>; Luiz Alberto Lira Soares<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Estudante do Curso de Farmácia – CCS - UFPE; E-mail: janaina\_carla29@hotmail.com,

<sup>2</sup>Docente/pesquisador do Depto de Ciências Farmacêuticas– CCS – UFPE; E-mail: phtech@uol.com.br

**Sumário:** O estudo químico vem despertando ao longo da história o interesse por desvendar a composição química das plantas classificadas como medicinais. A pesquisa fitoquímica busca conhecer os constituintes químicos das plantas ou conhecer o grupo de metabólitos secundários relevantes nas mesmas, os quais são potencialmente responsabilizados pelo efeito farmacológico das plantas. A presente pesquisa teve como objetivos realizar a caracterização farmacêutica de acordo com os métodos gerais segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (FB5, 2010) e avaliação fitoquímica através de impressões digitais por CCD-AE, de drogas vegetais de uso tradicional no nordeste brasileiro. Os dados obtidos revelaram que as amostras de aroeira e angico encontram-se dentro das especificações sanitárias para todos os testes físico-químicos realizados, indicando que a matéria-prima está em condições adequadas para sua utilização como objeto de estudo. A avaliação do perfil fitoquímico para os polifenóis presentes nem *Schinus terebinthifolius* (aroeira) confirmou a ocorrência de catequina, ácido gálico, flavonoides e derivados cinâmicos; enquanto que em *Anadenanthera colubrina* (angico) não houve detecção de ácido gálico. Em relação aos solventes extrativos, bandas de maior intensidade e melhor resolução foram obtidas com amostras preparadas com acetona:água 1:1, seguidas por aquelas preparadas com água e por fim por acetona:água 7:3. Em conclusão, esse trabalho permitiu traçar um perfil químico típico para os principais polifenóis presentes nas cascas de *S. terebinthifolius* e *A. colubrina*, e que futuramente poderá integrar banco de dados de impressões digitais de referência para auxiliar na identificação ou predição de propriedades biológicas de espécies de plantas medicinais utilizadas na medicina popular do Nordeste brasileiro.

**Palavras-chave:** CCDAE; impressões digitais, polifenóis

## INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a utilização de plantas medicinais vem crescendo principalmente nos países em desenvolvimento, onde sua utilização compõe um dos principais recursos disponíveis ou até mesmo a única alternativa para o tratamento primário de saúde. De forma geral, as plantas medicinais são de fácil acesso, seja em função da possibilidade de cultivo pelo próprio usuário ou ainda a baixa exigência sanitária que facilita a comercialização (MACIEL et al., 2002; AROKIYARAJ et al., 2008; GANGADEVI et al., 2008 GIL, 2010). Devido ao crescente interesse por plantas medicinais, muitos avanços foram alcançados, especialmente em virtude das diversas aplicações que as espécies podem apresentar para muitas patologias. As informações muitas vezes são obtidas pelo uso que a população faz das plantas medicinais e com uso constante para determinada doença, tornando assim relevante o seu uso na medicina popular (MACIEL et al., 2002; OLIVEIRA et al., 2010).

A eficiência terapêutica dos medicamentos é dependente da utilização correta das matérias-primas. Com o crescente uso de produtos à base de plantas, em todo o mundo, aumentou a preocupação das autoridades sanitárias no que diz respeito ao controle de qualidade e segurança desses produtos (FAN, 2006; GOMATHI et al., 2012).

Sob esse aspecto, a cromatografia em camada delgada (CCD) é bastante utilizada para o controle de qualidade de drogas vegetais, em virtude de sua simplicidade, facilidade de execução, baixo custo e de rápida análise. Porém, apresenta baixas reprodutibilidade e precisão (MARSTON, 2007; WAKSMUNDZKA-HAJNOS et al., 2008).

Neste contexto, o emprego da cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCD-AE) tem papel importante em razão das elevadas eficiência e resolução proporcionadas por suas placas, além de garantir reprodutibilidade satisfatória através do emprego de sistemas automatizados de aplicação. Dessa forma, a CCD-AE, apresenta as mesmas vantagens de uma CCD tradicional, porém garante maior controle na análise o que leva à reprodutibilidade dos resultados (WAGNER, 1996; NICOLETTI, 2011; SRIVASTAVA, 2011).

Desta forma, o perfil fitoquímico obtido da planta ou do seu produto derivado pode ser empregado para referência para assegurar a qualidade e a reprodutibilidade da eficácia terapêutica. Portanto, as impressões digitais cromatográficas (*fingerprint*) têm sido usadas como ferramentas analíticas complementares eficazes para identificação, autenticação e controle de qualidade de plantas medicinais (HARIPRASAD; RAMAKRISHNAN, 2012). Para aplicação dessa técnica foram selecionadas espécies vegetais, com reconhecido uso tradicional no Nordeste Brasileiro:

- *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), conhecida no Brasil como Aroeira da Praia, Aroeira do Paraná, Aroeira pimenteira e Aroeira Vermelha, é encontrada facilmente em terrenos arenosos da Mata Atlântica do Nordeste brasileiro e estendendo-se pelo cerrado até o Rio Grande do Sul, Argentina e Paraguai (TORRES, 1981). É uma das plantas mais conhecidas popularmente, empregada no tratamento de inflamações uterinas e na cicatrização de feridas e úlceras. Entre as atividades farmacológicas comprovadas destacam-se anti-inflamatória (MAHENDRA et al., 1995), antimicrobiana e cicatrizante (RAPOSO et al., 2002; DEGÁSPARI; WASZCZYNSKYJ; PRADO, 2005; LIMA et al., 2006).

- *Anadenanthera colubrina* Vell. Benth (Mimosaceae) é uma árvore com características conhecidas desde os tempos coloniais, devido seu uso e aplicações em diversas atividades, destacando-se a extração de taninos para curtimento de couro (INIA-OIMT, 1996). Popularmente é conhecida como angico (INIA-OIMT, 1996) e apresenta atividades como antisséptico através do uso de suas cascas sob a forma de chá (TEIXEIRA; MELO, 2006), ação hemostática, cicatrizante e propriedade adstringente. A casca do caule de *A. colubrina* é rica em polifenóis, destacando-se os taninos, aos quais são atribuídos muitos dos efeitos biológicos descritos (PIO CORREA, 1984; MONTEIRO et al., 2007).

## MATERIAIS E MÉTODOS

As drogas vegetais empregadas neste estudo foram caracterizadas de acordo com os métodos gerais segundo a Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (FB5, 2010): determinação de material estranho, perda por dessecação, teor de cinzas totais, análise granulométrica e determinação do teor de extrativos. Todos os ensaios foram realizados em triplicata e os resultados determinados pela média e desvio padrão.

Os extratos foram preparados na proporção 10 % da droga vegetal (m/v), empregando como solventes: água, acetona:água (1:1;v/v) ou acetona:água (7:3; v/v). Os processos de extração utilizados foram: 1) turbólise (com duração 16 minutos, com 4 ciclos alternados

de 1 minuto de rotação e 3 minutos de descanso); 2) refluxo (com duração de 30 minutos, e temperatura do banho maria à 80-85 °C); 3) ultrassom (com duração de 30 minutos) e, 4) maceração dinâmica (com duração de 30 minutos, sob agitação constante).

Após a filtração sob vácuo, o solvente orgânico foi eliminado em evaporador rotativo, e os extratos resultantes foram congelados e liofilizados para obtenção dos Extratos Brutos (EB). De cada EB, cerca de 1g foi disperso em água destilada e particionado com acetato de etila (10 a 12 vezes). As fases acetato de etila foram reunidas e concentradas em evaporador rotativo até eliminação total do solvente orgânico. O resíduo foi congelado e liofilizado, originando a fração acetato de etila (FAE). A fase aquosa também foi concentrada, congelada e liofilizada, originando a fração aquosa (FAQ).

Após a finalização da preparação de todos os extratos (EB, FAE e FAQ) pelos quatro métodos de preparação e solventes utilizados, foram obtidas 216 amostras.

Para determinação do perfil fitoquímico de *Schinus terebinthifolius* e *Anadenanthera colubrina* foi analisada a presença dos polifenóis taninos, flavonoides, derivados antracênicos e derivados cinâmicos, utilizando-se substâncias padrões de referência.

Antes da determinação do perfil fitoquímico por CCD-AE, foi realizado a otimização das fases móveis que foram empregadas para CCD simples. Foram utilizadas placas de sílica em alumínio e as amostras e padrões foram aplicados nas placas manualmente com o auxílio de capilares. As fases móveis, os padrões e os reveladores variam de acordo com o metabólito estudado.

## RESULTADOS

As amostras de *Schinus terebinthifolius* e *Anadenanthera colubrina* em suas caracterizações apresentaram valores dentro do preconizado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, onde para matéria estranha: as amostras cumprem o ensaio, com no máximo 1% de matéria estranha para aroeira e 0,52% para angico. No ensaio de perda por dessecação, as amostras de aroeira, apresentaram no máximo 11% de umidade e as de angico 9,49%. Os resultados encontram-se de acordo com os limites farmacopeicos (8 a 14%). Para cinzas totais: o teor médio foi de 8,66% e 4,45% para aroeira e angico, respectivamente. No ensaio de granulometria após as análises realizadas foi possível inferir que o tamanho médio das partículas para as amostras de aroeira de aproximadamente 410 µm e para o angico foi de 443µm.

Na determinação do perfil fitoquímico por CCD de *Schinus terebinthifolius* e *Anadenanthera colubrina*, foi possível observar a presença de catequina, ácido gálico (somente na aroeira), quercetina e ácido cafeico nas amostras analisadas, ficando ausente somente a antraquinona em ambas espécies.

## DISCUSSÃO

A Farmacopeia Brasileira 5ª edição preconiza para matérias primas de origem vegetal um teor de matéria estranha menor do que 2%. O teor de umidade pode variar de 8 a 14% e o de cinzas totais até 8%. Como pôde ser observado, as amostras encontram-se dentro do especificado pela Farmacopeia Brasileira em todos os testes físico-químicos. Isso indica que estão em condições adequadas para sua utilização como objeto de estudo.

As análises visuais realizadas após a aplicação dos reagentes reveladores para cada classe de polifenol descrito, foi possível concluir que nem todos estão presentes nas espécies estudadas.

Com a utilização desses métodos extrativos utilizados e os diferentes solventes, foi possível observar que as intensidades das bandas apresentaram uma sutil diferença entre os

métodos utilizados, onde entre refluxo e turbólise praticamente não é perceptível, mas estes dois em relação aos métodos de ultrassom e maceração dinâmica, mostraram-se levemente mais intensos, e essa percepção é mais notável quando se trata das frações enriquecidas. Em relação aos solventes extrativos, aquele que apresentou maior intensidade das bandas bem como uma separação e resolução melhor das bandas foi a acetona:água 1:1, seguida da água e da acetona:água 7:3.

## CONCLUSÕES

Os polifenóis detectados através das cromatoplasmas para as espécies em estudo são os principais relatados na literatura aos quais estão relacionados às suas propriedades biológicas. Os procedimentos desenvolvidos e avaliados conduziram a perfis químicos com separação satisfatória e reprodutíveis. Desta forma, os dados reunidos até o momento sugerem que as cromatoplasmas dos principais polifenóis de *Schinus terebinthifolius* e *Anadenanthera colubrina*, constituem ferramentas promissoras como impressões digitais das mesmas e que por esta razão poderão integrar um banco de dados de para auxiliar na identificação e na avaliação da qualidade biológica de drogas vegetais obtidas a partir de espécies de plantas medicinais utilizadas na medicina popular do Nordeste brasileiro.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Laboratório de Farmacognosia, ao CNPq, pela bolsa PIBIC.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, M.M.R., SANTOS, L.C: Tratamento de vaginos e bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia 2003, 25:95-102.
- BERNARDES, N.R. Estudo da composição química e dos efeitos imunofarmacológicos do extrato dos frutos da aroeira (*Schinus terebinthifolius*Raddi). Dissertação de Mestrado – UENF2010.
- CARLINI, E.A., DUARTE-ALMEIDA, J.M., RODRIGUES, E., TABACH, R. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira da praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do-sertão). Brazilian Journal of Pharmacognosy 2010, 20:140-146.
- DEGÁSPARI, C.H., WASZCZYNSKYJ, N., PRADO, M.R.M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. Ciência e Agrotecnologia, v. 29, n. 3, p. 617-22, 2005.
- FAN, X.H., CHENG, Y.Y., YE, Z.L., LIN, R.C., QIAN, Z.Z. Multiple chromatographic fingerprinting and its application to the quality control of herbal medicines. Analytica Chimica Acta, v. 555, p. 217–224, 2006.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5 ed., Brasília: Anvisa, 2010.
- MARSTON, A. Role of advances in chromatographic techniques in phytochemistry. Phytochemistry, v. 68, p. 2785-2797, 2007.
- NICOLETTI, M. HPTLC fingerprint: a modern approach for the analytical determination of botanicals. Revista Brasileira de Farmacognosia, v.21, n.5, p. 818-823, 2011.
- WAGNER, H.M.; BLADT, S.; ZGAINSKI, E.M. Plant drug analysis. New York: Springer-Verlag, 1996.
- WAKSMUNDZKA-HAJNOS, M.; SHERMA, J.; KOWALSKA, T. Thin layer chromatography in phytochemistry. Chromatographic Science Series, v. 99, 2008.