

PARÂMETROS PARA O CONTROLE DA QUALIDADE DE FOLHAS DE *CASEARIA SYLVESTRIS* SW. - GUAÇATONGA

Sonia Francini Boszczowski Luz*
Mayumi Eliza O. Sato
Márcia do Rocio Duarte
Cid Aimbiré de Moraes Santos* *

O objetivo deste trabalho foi estabelecer parâmetros farmacognósticos de *Casearia sylvestris* Sw., Flacourtiaceae, conhecida na medicina popular como guaçatonga, para melhorar o controle de qualidade da droga. A espécie é oficializada na Farmacopéia Brasileira I, onde estão descritas apenas as características macroscópicas e microscópicas. São sugeridos novos parâmetros para determinação de resíduo de incineração, extrato seco e doseamento de taninos, como também um perfil cromatográfico em camada delgada.

Unitermos: *Casearia sylvestris*, Flacourtiaceae, controle de qualidade, parâmetros, guaçatonga.

Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Rua Prof. Lothario Meissner, 3400, Jardim Botânico, 80210-170, Curitiba, Paraná (gnosia@subsede.ufpr.br).

* Parte da Dissertação apresentada para o Curso de Mestrado em Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

** Autor para correspondência (cid@subsede.ufpr.br):

1. INTRODUÇÃO

Com o aumento do consumo de medicamentos de origem vegetal, devido a diversos fatores, os fitoterápicos vêm sendo utilizados para suprir muitas vezes as necessidades de assistência médica primária da população. As espécies vegetais podem ser coletadas incorretamente, dessecadas de maneira precária, podendo ocorrer perda de substâncias ativas. Esse material seco é vendido a distribuidoras, que o repassam a firmas que produzem extratos vegetais, ou a farmácias, sendo que a maioria dessas empresas não realiza controle de qualidade dos produtos adquiridos. Esses fatos tem contribuído para a má qualidade dos fitoterápicos.¹⁻³

Os nomes regionais das plantas podem constituir-se em outro problema. Um exemplo são as espécies de *Casearia* abordadas neste trabalho, que são conhecidas, entre outros nomes populares, como guaçatonga e cafezeiro-do-mato, podendo ser confundidas com outras espécies.

A identificação e a pureza da droga, bem como a avaliação de seus princípios ativos são tarefas indispensáveis aqueles que buscam obter produtos de boa qualidade.⁴ No Brasil, apesar de muito utilizados, os produtos derivados de plantas, comercializados e consumidos, não eram sujeitos a nenhum tipo de controle. Em 1995, a Secretaria de Vigilância Sanitária instituiu a Portaria nº 6, de 31 de janeiro, que reafirma, definitivamente, que fitoterápicos são medicamentos e resgata a necessidade da existência estudos de segurança, de eficácia e de qualidade prévios ao registro desses produtos.

Dentro desse contexto, a determinação de parâmetros para as drogas conhecidas popularmente como guaçatonga, *Casearia sylvestris* Swartz e *C. decandra* Jacquin, da família Flacourtiaceae, é de grande importância. Apenas *C. sylvestris* Sw. está oficializada pela Farmacopéia Brasileira I de 1929, data anterior ao desenvolvimento de diversas técnicas, como a cromatografia, essenciais às análises de controle da qualidade de drogas. Há em sua monografia, nada além das descrições macroscópica e microscópica das folhas, definidas como sendo a parte usada da planta, e a citação do extrato fluido de "herba de bugre" como produto oficial. Pelas atuais exigências governamentais, esses dados não são suficientes para se efetuar um controle da qualidade da droga vegetal em questão.

Em função da necessidade de parâmetros que auxiliem o controle de qualidade de drogas vegetais,⁵ foram coletadas diversas amostras

tras das folhas de *C. sylvestris Sw.*, em diferentes localidades do Brasil, com o objetivo de realizar um estudo farmacognóstico sugerindo valores para o teor de umidade, resíduo de incineração, extrato seco, bem como estabelecendo o perfil cromatográfico do extrato bruto e a análise quantitativa dos taninos, seu principal marcador químico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Coleta do material

O material botânico de *C. sylvestris Sw.* foi obtido nos meses de janeiro, outubro, novembro e dezembro de 1996, coletados em Curitiba, PR (amostra A), Piraquara, PR (amostra B), Quatro Barras, PR (amostra C), Porto Alegre, RS (amostra D), Araraquara, SP (amostra E), Itajaí, SC (amostra F) e Chapada dos Guimarães, MT (amostra G). Exsiccatas do material botânico coletado em Curitiba foram depositadas no Herbário UPCB, do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná e registradas sob número 31362.

2.2. Caracterização macroscópica e microscópica

A caracterização macroscópica (morfologia externa) foi realizada por meio da verificação visual da morfologia das folhas, comparando-se com o descrito na literatura consultada. O estudo microscópico (anatômico) foi efetuado em folhas adultas obtidas a partir do 6º nó caulinar, sendo analisadas as estruturas do pecíolo e lâmina foliar. Em secções transversais e longitudinais da lâmina foliar, foram analisadas a epiderme, a nervura mediana no terço inferior e o mesófilo na região entre a borda e a nervura mediana.

2.3. Abordagem fitoquímica

A droga seca e pulverizada foi deixada em maceração por 24h, em solução de etanol a 70% para o preparo do extrato etanólico a 20% (p/v); e em água destilada em banho maria a 60°C por 2h, para o preparo do extrato aquoso a 20% (p/v). Ambos os extratos foram submetidos a ensaios de verificação da presença de grupos químicos de acordo com técnicas prescritas na literatura.^{6,7}

2.4. Ensaio de extrato seco, resíduo de incineração e teor de umidade

Para esses ensaios foram utilizadas as técnicas descritas na Farmacopéia Brasileira IV⁸ e métodos para o controle da qualidade de drogas vegetais da Organização Mundial de Saúde (OMS).⁹ A determinação do teor de umidade foi realizada pelo método azeotrópico com tolueno-água em aparelho de Clevenger para essências mais densas que a água em substituição ao aparelho proposto por Dean e Stark, para destilação azeotrópica.

Os resultados referentes a esses ensaios foram expressos em valores médios de triplicatas. O teste de hipótese foi efetuado com a aplicação do teste *t* de Student, com significância de 95% de probabilidade ($p = 0,05$).¹⁰

2.5. Perfil cromatográfico em camada delgada

O extrato foi obtido da droga seca e pulverizada (0,1g) adicionada à solução de etanol 70% (1ml) em tubo Ependorff, o qual foi submetido a agitação vigorosa, seguido de decantação. A alíquota sobrenadante foi concentrada e aplicada em placas de sílica gel Merck preparadas com Kieselgel 60 (F₂₅₄), de 7x2cm e transferidas para cubetas de vidro previamente saturadas com fases móveis de diferentes polaridades. A visualização foi feita por observação sob luz ultravioleta e após aspersão de solução de ácido fosfomolibdico a 10% seguido de aquecimento a 105°C, por 10min.

2.6. Determinação do teor de taninos

O teor de taninos foi determinado por espectrofotometria em aparelho Shimadzu UV-1601, após precipitação destes com pó de pele cromada Sigma, de acordo com a metodologia descrita na Farmacopéia Helvética VII,¹¹ utilizando-se o reativo de Folin-Denis, segundo Reicher *et al.*¹² Como padrão de referência, usou-se o pirogalol Merck

3. RESULTADOS

O extrato hidroalcoólico da amostra A de *C. sylvestris Sw.* mostrou a presença de glicosídeos flavônicos, esteróides e/ou triterpenóides, sendo negativos os testes para alcalóides, glicosídeos antraquinônicos

e cumarinas. Os ensaios com o extrato aquoso da droga resultaram negativos para glicosídeos antociânicos e cianogenéticos, levemente positivo para glicosídeos saponínicos e fortemente positivo para taninos, com predominância de taninos condensados, demonstrados pela reação com cloreto férrico.

Os ensaios para determinação de extrato seco, resíduo de incineração e teor de umidade estão sumarizados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.

A melhor fase móvel para a determinação do perfil cromatográfico da droga *C. sylvestris* Sw. foi obtido do extrato hidroalcoólico utilizando-se acetato de etila/hexano/ácido fórmico (1,0:0,7:0,3), observando-se a presença de quatro manchas de coloração azul, após revelação com solução de ácido fosfomolibdico, com R_f 0,08, 0,28, 0,58 e 0,75.

Os resultados referentes à determinação do teor de taninos estão sumarizados na Tabela 4.

Tabela 1. Determinação de extrato seco a frio e a quente das folhas dessecadas de *C. sylvestris* Sw.

Amostras	Ensaio			Valores médios (n=3)
	1	2	3	
Extrato seco a frio (g%)				
A	24	24	23	23,7
B	20	18	17	18,3
C	21	22	20	21,0
D	23	23	23	23,0
E	16	17	18	17,0
F	15	17	16	16,0
G	*	*	*	*
Extrato seco a quente (g%)				
A	25	26	26	25,7
B	27	27	29	27,7
C	29	29	30	29,3
D	33	27	28	29,3
E	31	31	29	30,3
F	23	23	22	22,7
G	*	*	*	*

* amostra insuficiente para análise.

Amostras: A, Curitiba, PR; B, Piraquara, PR; C, Quatro Barras, PR; D, Porto Alegre, RS; E, Araraquara, SP; F, Itajaí, SC; G, Chapada dos Guimarães, MT.

Tabela 2. Determinação de resíduo de incineração das folhas dessecadas de *C. sylvestris* Sw.

Amostras	Ensaio			Valores médios (n=3)
	1	2	3	
Cinzas totais (g%)				
A	5,37	5,79	5,89	5,68
B	7,83	7,95	7,35	7,71
C	6,94	7,02	7,12	7,03
D	8,41	8,47	8,43	8,44
E	8,50	7,74	7,78	8,00
F	6,93	7,05	6,89	6,96
G	4,90	4,50	4,70	4,70
Cinzas insolúveis em ácido (g%)				
A	1,73	1,93	1,91	1,86
B	2,01	2,01	1,98	2,00
C	2,15	2,06	2,25	2,16
D	1,10	1,46	1,27	1,28
E	0,54	0,46	0,44	0,48
F	0,45	0,47	0,59	0,50
G	0,37	0,40	0,42	0,40

Amostras: A, Curitiba, PR; B, Piraquara, PR; C, Quatro Barras, PR; D, Porto Alegre, RS; E, Araraquara, SP; F, Itajaí, SC; G, Chapada dos Guimarães, MT.

Tabela 3. Determinação do teor de umidade, em porcentagem, das folhas dessecadas de *C. sylvestris* Sw.

Amostras	Ensaio			Valores médios (n=3)
	1	2	3	
A	7,2	8,0	7,7	7,6
B	10,5	11,0	11,8	11,1
C	4,0	6,0	5,6	5,5
D	8,0	8,2	7,9	8,0
E	7,7	8,0	8,4	8,0
F	*	*	*	*
G	*	*	*	*

* amostras insuficientes para análises

Amostras: A, Curitiba, PR; B, Piraquara, PR; C, Quatro Barras, PR; D, Porto Alegre, RS; E, Araraquara, SP; F, Itajaí, SC; G, Chapada dos Guimarães, MT.

Tabela 4. Determinação do teor de taninos, em g%, das folhas dessecadas de *C. sylvestris* Sw.

Amostras	Ensaio			Valores médios (n=3)
	1	2	3	
A	4,7	4,0	3,4	4,0
B	3,9	3,8	3,7	3,8
C	5,6	5,0	5,1	5,2
D	4,9	5,5	5,3	5,2
E	*	*	*	*
F	*	*	*	*
G	4,3	4,5	4,4	4,4

* amostras insuficientes para análises

Amostras: A, Curitiba, PR; B, Piraquara, PR; C, Quatro Barras, PR; D, Porto Alegre, RS; E, Araraquara, SP; F, Itajaí, SC; G, Chapada dos Guimarães, MT.

4. DISCUSSÃO

As amostras coletadas e recebidas foram identificadas de acordo com seus caracteres morfológicos externos e pela descrição dos caracteres microscópicos, conforme descrito na literatura.^{13,14}

Os principais grupos químicos encontrados nas amostras de *C. sylvestris* Sw. estudadas foram glicosídeos flavônicos, saponínicos, esteróides e/ou triterpenóides e taninos. Esses grupos de substâncias já foram descritos na literatura,^{13,15-17} tendo sido os taninos, pela quantidade e facilidade do método de doseamento, escolhidos como marcador.

Com referência à pureza da droga, não houve problemas de contaminação ou adulterações devido à procedência idônea do material. Mas, como há necessidade de efetuar essa análise, é de fundamental importância que sejam respeitados os limites de contaminantes, que alteram a qualidade do material. A OMS estipula um máximo de 3% de matéria orgânica estranha que pode apresentar-se junto com a droga. Nesse sentido, sugere-se o valor máximo de 3%, conforme estabelecido.

A análise de resíduo por incineração (cinzas) é importante no controle da qualidade de drogas vegetais, principalmente quando apresentam-se pulverizadas. No caso da *C. sylvestris* Sw., não há citações para os parâmetros de cinzas totais e cinzas insolúveis em ácido. Nas análises efetuadas foi encontrado, para cinzas totais, um valor médio

de 6,78g%, para dados entre 4,70g% e 8,44g%. Após aplicação do teste *t* para o cálculo de hipótese no nível de significância de 95% de probabilidade ($p = 0,05$), o limite máximo estabelecido pelo teste foi de 7,7g%. Nesse caso, as amostras de Porto Alegre e Araraquara seriam rejeitadas. Para cinzas insolúveis em ácido, a média foi de 1,24g%, com dados variando entre 0,40 a 2,16g%. O resultado do cálculo de hipótese indica que o máximo permitido é de 1,8g%, sendo nesse caso, rejeitadas as amostras de Piraquara e Quatro Barras. Análise cuidadosa desses dados nos permite propor que, para a amostragem efetuada, podem ocorrer variações devido às condições ambientais. Piraquara e Quatro Barras, no Paraná, são regiões próximas geograficamente e apresentam resultados semelhantes.

Nas análises de determinação de umidade, o valor médio encontrado foi de 8,04% com um máximo de 11%, todas dentro dos limites estabelecido pela literatura de 8 a 12%.^{4,8,11,18}

A determinação do extrato seco é indicada para pequenos laboratórios que não dispõem de métodos analíticos para dosear princípios ativos. No método a frio, obteve-se uma média de 19,83g% (mín.: 16g%; máx.: 23,7g%). A aplicação do teste de hipótese para esse ensaio na população estudada indicou que a droga deve apresentar, no mínimo, 17,2g% de matéria extraível. Nesse caso, apenas a amostra de Itajaí seria rejeitada. Para o método a quente, foi obtido o valor médio de 27,5g% (mín.: 22,7g%; máx.: 30,3g%) sugerido-se um valor mínimo de 25,1g%, após aplicação do teste *t*. Novamente, a amostra de Itajaí seria rejeitada nesse ensaio.

Para o doseamento de taninos, no nível de significância de 95%, sugere-se um valor mínimo de 3,9g%. Nas análises efetuadas foi encontrada a média de 4,52g% de taninos nas amostras (mín.: 3,8g%; máx.: 5,2g%), sendo que o valor após aplicação do teste *t* é semelhante ao valor mínimo obtido na amostra proveniente de Piraquara.

5. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos permitem, em função das amostras estudadas terem sido previamente identificadas e preparadas para as análises, sugerir parâmetros de valores mínimos e máximos para o controle da qualidade da droga *C. sylvestris* Swartz. Esses valores estão sumarizados na Tabela 5.

Tabela 5. Valores sugeridos para o controle da qualidade de *C. sylvestris* Swartz.

Análise	Min./Máx. (g%)	Média (g%)	Valor do teste t (g%)	Limite sugerido (g%)
Ext. seco a frio	16,0/23,7	19,83	Mín. 17,2	Mín. 17
Ext. seco a quente	22,7/30,3	27,50	Mín. 25,1	Mín. 25
Cinzas totais	4,7/8,0	6,78	Máx. 7,70	Máx. 8
Cinzas insol. ácido	0,40/2,16	1,24	Máx. 1,80	Máx. 2
Taninos	3,80/5,20	4,52	Mín. 3,90	Mín. 3,8
Umidade	5,5/11,1	8,04	-	Máx. 12
Mat. org. estranha	-	-	-	Máx. 3

Esses valores, se aplicados em amostras comercializadas, deverão indicar um novo perfil de qualidade para a droga. Vale ressaltar que a grande maioria das drogas comercializadas em nosso país não apresenta padrões de qualidade definidos. Um programa para elaboração de monografias de drogas vegetais e/ou elaboração de uma Farmacopéia Brasileira de Drogas Vegetais deve ser incentivado.

6. ABSTRACTS

The aim of this work was to establish pharmacognostic parameters of *Casearia sylvestris* Swartz, known in the folk medicine as guaçatonga, to improve the quality control of the drug. The species is official in the Farmacopéia Brasileira I, where only macroscopic and microscopic characters are described. We suggest new parameters for ash content, water extract and evaluation of tannins, as well as its profile in thin layer chromatography.

AGRADECIMENTOS: Ao CNPq pela Bolsa de Mestrado a SFBL durante a realização do curso. Os autores agradecem aos professores Pedro Ros Petrovick (UFRRS) e Maique Weber Biavatti (UNIVALI) pelo envio de amostras de *C. sylvestris* Sw., Olavo Guimarães Araújo (UFPR), pela identificação das espécies coletadas no Paraná, e João Carlos Possamai (UFPR), pelo auxílio nas análises estatísticas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FARIAS, M.R.; SCHENKEL, E.P.; BERGOLD, A.M.; PETROVICK, P.R. *Cad. Farm* 1985, 1, 63-137.
- MARQUES, L.C.; MEYER, A.L.; MELLO, J.C.P.; CARDOSO, M.L.C. *Trib. Farm.* 1991, 57/59, 73-77.
- STASI, L.C. *Plantas medicinais: arte e ciência*; UNESP: São Paulo, 1996.
- OLIVEIRA, F.; AKISUE, G.; AKISUE, M.K. *Farmacognosia*; Atheneu: São Paulo, 1996.
- LEITE, S.N.; BIAVATTI, M.W. *Rev. Bras. Farmacognosia* 1996, 5, 175-184.
- CAETANO, N.N.; DUARTE, M.R.; SANTOS, C.A.M. *Farmacognosia prática*; Depto. Farmácia, UFPR: Curitiba, 1996; Vol. I.
- DOMINGUEZ, X.A. *Métodos de investigación fitoquímica*; Editorial Limusa: México, 1973.
- FARMACOPÉIA BRASILEIRA 4ed.; Atheneu: São Paulo, 1994.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION; (WHO/PHARM, 92.559/rev.1): Geneva, 1992, 84p.
- PO, A.L.W. *Statistics for pharmacists*; Blackwell Science: London, 1998.
- PHARMACOPOEIA HELVETICA; 7ed.; Department Federal de L'Interieur: Bern, 1995.
- REICHER, F.; SIERAKOWSKI, M.R.; CORRÊA, J.B.C. *Arq. Biol. Tecnol.* 1985, 24, 407-411.
- ABSY, M.L.; SCAVONE, O. *Bol. Zool. e Biol. Mar.* 1973, 641-676.
- SILVA, R.A. *Pharmacopoeia dos Estados Unidos do Brasil*; Nacional: São Paulo, 1929.
- POSSOLO, H.; FERREIRA, C. *Anais Fac. Farm. e Odont. Univ. São Paulo* 1979, 19, 73-81.
- JUNGES, M.J.; SCHENKEL, E.P.; SIMÕES, C.M.O. *Cad. Farm.* 1985, 1, 96-101.

17. ITOKAWA, H.; TOTSUKA, N.; MORITA, H.; TAKEYA, K.; ITAKA, Y.; SCHENKEL, E.P.; MOTIDOME, M. *Chem Pharm. Bull.* 1990, 38, 3384-3388.
18. EVANS, W.C. *Trease & Evans Farmacognosia*; 13ed.; Interamericana: Mexico, 1991.