

Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais

**Maria Teresa F. Bara^{1,2*}, Paula A.M. Ribeiro¹, Maria do Carmo B. Arantes¹,
Luci Ley S.S. Amorim¹, José Realino de Paula^{1,2}**

¹Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás,
Caixa Postal 131, 74605-220, Goiânia, GO, Brasil,

²Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás,
Caixa Postal 131, 74605-220, Goiânia, GO, Brasil

RESUMO: Castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), hipérico (*Hypericum perforatum* L.), guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K.) e ginkgo (*Ginkgo biloba* L.) fazem parte de formulações de medicamentos fitoterápicos muito comercializados no Brasil. Neste trabalho foi avaliada a qualidade de amostras de pós e extratos destas plantas. Para a determinação do teor de princípios ativos foram aplicados métodos farmacopéicos ou citados na literatura científica e os resultados demonstraram serem adequados para a análise destes produtos farmacêuticos. Verificou-se que 60% das amostras analisadas de guaraná e ginkgo estavam em desacordo com as especificações farmacopéicas ou as declaradas pelos laudos dos fabricantes, em relação ao teor de princípios ativos. Além disso, 100% e 20%, respectivamente, das amostras de hipérico e de castanha-da-índia apresentaram teores abaixo das especificações. Os dados obtidos mostraram ser de grande importância e necessidade a implementação de técnicas quantitativas no controle de qualidade físico-químico de matérias-primas vegetais.

Unitermos: Controle de qualidade, planta medicinal, fitoterápico, *Aesculus hippocastanum*, *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *Paullinia cupana*.

ABSTRACT: "Determination of active principles in vegetable raw materials". Pharmaceutical preparations containing *Aesculus hippocastanum* L., *Hypericum perforatum* L., *Paullinia cupana* H.B.K. and *Ginkgo biloba* L. have large market. In this work the quality of the powder or extracts of these plants were evaluated. Pharmacopoeia methods or those cited on scientific literature for quantification of active substances were employed and the data showed them to be adequate for these analyses. The analytical results demonstrated that 60% of the samples of *P. cupana* and *G. biloba*, and 100% and 20%, respectively of samples of *H. perforatum* and *A. hippocastanum* were not in agreement with the specifications. This analysis showed to be valuable for herbal medicines quality control.

Keywords: Quality control, medicinal plants, phytomedicine, *Aesculus hippocastanum*, *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *Paullinia cupana*.

INTRODUÇÃO

A garantia do uso seguro e eficaz de fitoterápicos envolve análises físico-químicas e microbiológicas de matérias-primas e do produto acabado, como etapa preliminar para alcançar um padrão de qualidade necessário a um medicamento. Embora diversos estudos tenham demonstrado a necessidade de garantir segurança aos produtos de origem vegetal (Bauer; Tittel, 1996; Brandão et al., 2002; Choi et al., 2002; Bast et al., 2002; Melo et al., 2004), a aplicação e a validação de métodos analíticos para matérias-primas a base de plantas ainda são escassos na literatura (Sticher, 1993; Van Beek; Wintermans, 2001; Wang; Yao; Zeng, 2003; Bara; Cirilo; Oliveira, 2004; Mousinho; Oliveira, 1986).

Plantas como castanha-da-índia, hipérico, guaraná e ginkgo constituem a matéria-prima presente em diversas especialidades farmacêuticas, bem como em formulações magistrais produzidas nas farmácias com manipulação. Embora sejam plantas empregadas tradicionalmente na fitoterapia, seu uso requer critérios, uma vez que apresentam contra-indicações e podem levar a reações adversas severas (Schulz; Hansel; Tyler, 2002; Newall; Anderson; Phillipson, 2002; Desai; Grossberg, 2003; Cordeiro; Chung; Sacramento, 2005).

A Anvisa, por meio da Resolução RDC 89/2004 (Brasil, 2004), publicou uma lista de fitoterápicos de registro simplificado e buscou estabelecer a padronização de marcadores químicos para diversas plantas e limite diário para seu uso. Entende-se esta preocupação como

Tabela 1. Determinação de saponinas triterpênicas calculadas como escina em extratos de castanha-da-índia. Especificação da Farmacopéia Brasileira (2004) = mínimo de 3%.

Amostra*	Fabricante	Teor de escina
1	A	3,75
2		3,68
3		3,54
4		3,4
5		2,84
6		2,28
7	B	4,35
8		4,08
9		3,56
10		3,55

*todas as amostras estavam dentro do prazo de validade todas as matérias-primas pertenciam a diferentes lotes de produção

Tabela 2. Determinação de metilxantinas calculadas como cafeína em pó de guaraná. Especificação da Farmacopéia Brasileira (2004) = mínimo de 5%.

Amostra*	Fabricante	Teor de cafeína
1	A	5,09
2		4,77
3		4,69
4		4,53
5		4,37
6		2,49
7	B	4,03
8	C	5,98
9		4,76
10		4,64
11	D	5,37
12		5,36
13		5,03
14		4,98
15	E	5,37

*todas as amostras estavam dentro do prazo de validade as matérias-primas pertenciam a 11 lotes de produção

etapa fundamental para assegurar o uso e garantir eficácia ao fitoterápico. Buscando atuar neste contexto, a necessidade de determinar o teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais motivou a realização deste trabalho. Procedimentos de controle de qualidade de plantas medicinais devem ser realizados e envolvem, numa primeira etapa, análises macroscópicas e microscópicas que visam a identificação e análise do grau de pureza das mesmas (Choi et al, 2002). Acredita-se, entretanto, que por meio de análises quantitativas como etapa obrigatória na avaliação dos produtos vegetais pode-se alcançar a qualidade farmacêutica dos fitoterápicos.

MATERIAL E MÉTODOS

Produtos analisados

Este estudo foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia da UFG.

Foram enviadas para análises 10 amostras do pó

de castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.); 15 amostras de guaraná em pó (*Paullinia cupana* H.B.K.); 5 extratos secos de hipérico (*Hypericum perforatum* L.); 25 extratos secos padronizados de *Ginkgo biloba* L. - Egb761 - adquiridos pelos solicitantes das análises de diversos fornecedores e compondo diferentes lotes. Neste estudo, totalizou-se 55 amostras analisadas de matérias-primas.

As amostras encontram-se descritas neste trabalho por números e os diferentes fornecedores por letras distintas. Análises de um mesmo lote de produção podem ter sido realizadas mais de uma vez, para atender a demanda dos solicitantes.

Condições experimentais

As análises de castanha-da-índia e guaraná foram realizadas de acordo com Farmacopéia Brasileira IV edição (2004). Hipérico foi analisado de acordo com European Pharmacopoea (Suppl. 2001). Utilizou-se espectrofotômetro UV/vis Varian, modelo Cary 50

Tabela 3. Determinação de hipericinas totais calculadas como hipericina em extratos de hipérico. Especificação do fornecedor = 0,4% (amostra 1) e 0,3% (demais amostras) de hipericina.

Amostra*	Fabricante	Teor de hipericina
1	A	0,35
2		0,26
3		0,24
4	B	0,27
5		0,25

*todas as amostras estavam dentro do prazo de validade as matérias-primas pertenciam a quatro lotes de produção

Tabela 4. Determinação de flavonóides em extratos padronizados de ginkgo EGb761 - Especificação do fornecedor = no mínimo 24,0% de flavonóides.

Amostra*	Fabricante	Teor de flavonóides	Amostra*	Fabricante	Teor de flavonóides
1	A	28,94	14	B	25,92
2		28,59	15		22,34
3		27,94	16		20,48
4		25,87	17		20,06
5		24,48	18		19,18
6		24,20	19	C	29,72
7		24,00	20		19,69
8		23,70	21	D	22,98
9		22,37	22	E	15,89
10		22,09	23	F	0,62
11		21,57	24	G	20,85
12		20,73	25	H	27,36
13		18,07			

*todas as amostras estavam dentro do prazo de validade as matérias-primas pertenciam a 14 lotes de produção

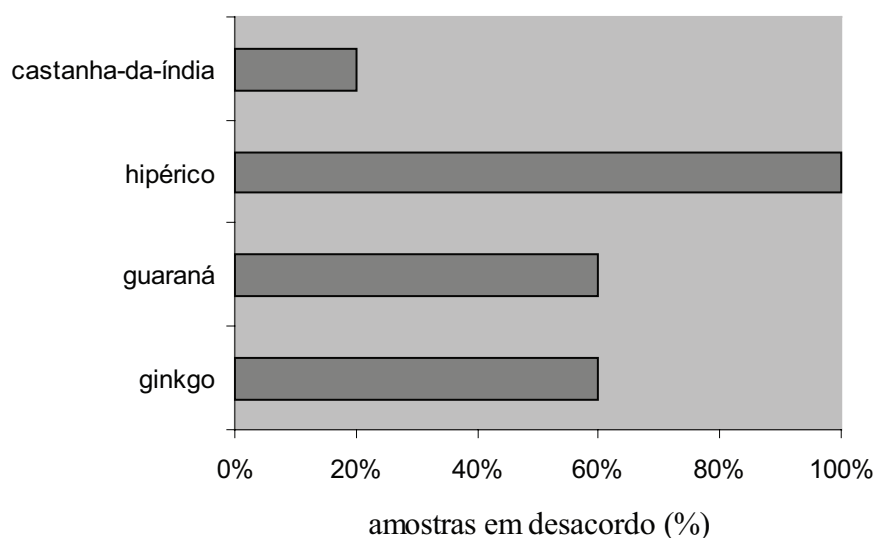


Figura 1. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas à base de castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.); guaraná (*Paullinia cupana* H.B.K.); hipérico (*Hypericum perforatum* L.) e ginkgo (*Ginkgo biloba* L.).

Bio para o desenvolvimento das técnicas analíticas. As análises de ginkgo foram realizadas de acordo com Bara; Cirilo; Oliveira (2004). Utilizou-se cromatógrafo líquido Varian, modelo ProStar, acoplado com detector UV, modelo ProStar (Varian), *software* Varian Star Workstation versão 5.0 para registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. A separação dos ginkgoflavonóides foi executada usando uma coluna Microsorb-MV 100 C₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm). As análises foram realizadas em duplicata.

RESULTADOS

Os resultados das análises das 55 amostras de matérias-primas selecionadas para este trabalho são apresentados nas tabelas 1 a 4. Os resultados globais obtidos no estudo estão representados na Figura 1.

DISCUSSÃO

A análise do teor dos principais componentes biologicamente ativos em matérias-primas de origem vegetal e de fitoterápicos é uma etapa essencial para a segurança e eficácia de sua utilização na elaboração de produtos farmacêuticos. A quantificação de substâncias ativas em fitoterápicos ainda é realizada de forma incipiente e a presença de um fitocomplexo ativo nas plantas e seus extratos dificulta a análise (Williamson, 2001). Além disso, a disponibilidade de um número reduzido de substâncias químicas de referência para comparação com matérias-primas vegetais contribui para esta situação.

Na análise das matérias-primas selecionadas para este trabalho pode-se verificar que 56,36% das amostras estavam em desacordo com as especificações farmacopéicas ou declaradas no laudo dos fornecedores. Dentre as amostras, pode-se verificar que 100% dos extratos secos de hipérico apresentaram valores abaixo das especificações dos fornecedores, o que permite questionar se a padronização destes extratos não deveria ser feita com concentrações menores de hipericina. Além disso, pode-se sugerir que, particularmente, dentre os extratos de hipérico e ginkgo analisados e que estavam em desacordo com as especificações, deveria-se investigar a umidade dos mesmos, o que poderia está sendo responsável pelo teor abaixo das especificações. Considerou-se o valor para teor de umidade declarado no laudo do fornecedor das matérias-primas para a realização das análises. Deve-se ressaltar que o emprego de extratos secos nas formulações farmacêuticas apresenta vantagens em relação ao uso da planta em pó, tais como uma maior concentração de princípios ativos, a possibilidade de padronização do conteúdo de princípios ativos e menor contaminação microbiana. O uso de extratos padronizados centrados em grupos específicos de princípios ativos visando garantir a homogeneidade química do produto lote a lote, pode contribuir para melhoria da qualidade das matérias-

primas vegetais e conseqüentemente dos medicamentos assim elaborado (Bauer, 1998; Calixto, 2000; Capasso et al., 2000). Entretanto, apresenta como desvantagem de uso o fato de serem muito higroscópicos e possuírem maior valor comercial (Crippa, 1978; Petrovick; Ortega; Bassani, 1997).

Dentre as análises realizadas, uma amostra de ginkgo levou a um resultado bastante preocupante, apresentando teor de flavonóides de 0,62%, confirmado em ensaio com 4 repetições. Este resultado permitiu questionar ser a amostra pó de ginkgo, embora o laudo do fornecedor constasse ser extrato padronizado a 24%. Deve-se ressaltar que o pó de ginkgo não tem equivalência farmacêutica com o extrato EGb761, e portanto não pode ser substituído aleatoriamente, além de possuir elevado conteúdo de ácido gincólico (Simões; Farias, 2002).

Em relação ao guaraná em pó, adotou-se como especificação para o teor de metilxantinas calculadas como cafeína, os parâmetros da Farmacopéia Brasileira IV edição, 5º fascículo (2004), cujo valor é de no mínimo 5%. Pode-se observar que todos os laudos dos fornecedores utilizavam as especificações para cafeína baseados na IIIª edição da Farmacopéia Brasileira (1977), que emprega o método gravimétrico e o limite para este princípio ativo é menor (3,5 %), fato que pode justificar em parte o índice de reprovação encontrado. Neste trabalho, optou-se por investigar apenas o teor de cafeína no guaraná em pó, não sendo executada a determinação de polifenóis conforme preconizado pela Farmacopéia Brasileira IV edição (2004).

Castanha-da-índia foi a matéria-prima que apresentou maior aceitação nas análises realizadas para quantificação de saponinas triterpênicas calculadas como escina, ou seja, apenas 20% das mesmas estavam com teor abaixo do especificação farmacopéica.

Os resultados obtidos neste estudo reafirmam a necessidade de validar fornecedores de matérias-primas vegetais e também demonstram que empresas farmacêuticas que adquiram estes produtos devam ter maior critério para o uso das mesmas, armazenando-as e manipulando-as de forma adequada e realizando o controle de qualidade das mesmas. O uso de matérias-primas com teor abaixo das especificações acarretam na produção de lotes de medicamentos sem uniformidade química, podendo levar ao uso de sub-dosagem de fitoativos na formulação farmacêutica, o que por sua vez contribuiria para a não eficiência do fitoterápico. Portanto, é importante enfatizar a necessidade de realização de análises para determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais, associadas a análises de identidade e pureza de plantas. Desta forma pode-se buscar uma padronização de fitoterápicos produzidos e conseqüentemente, contribuir para assegurar eficácia ao seu uso.

REFERÊNCIAS

- Bara MTF, Cirilo HNC, Oliveira V 2004. Determinação de ginkgoflavonóides por cromatografia líquida de alta eficiência em matérias-primas e produtos acabados. *Revista Eletrônica de Farmácia 1*: 1-7.
- Bast A, Chandler RF, Choy PC, Delmulle LM, Gruenwald J, Halkes SBA, Keller K, Koeman JH, Peter P, Przyrembel H, Ree EM, Renwick AG, Vermeer ITM 2002. Botanical health products, positioning and requirements for effective and safe use. *Environ Toxicol Phar 12*: 195-211.
- Bauer R 1998. Quality criteria and standardization of phytopharmaceuticals: can acceptable drug standards be achieved? *Drug Information J 32*: 101-110.
- Bauer R, Tittel G 1996. Quality assessment of herbal preparations as a precondition of pharmacological and clinical studies. *Phytomedicine 2*: 193-198.
- Brandão MGL, Alves RMS, Moreira RA, Oliveira P, Vieira MT, Moreira-Campos LM 2002. Qualidade de amostras comerciais de chás de plantas medicinais. *Rev Bras Pl Med 5*: 56-59.
- Brasil 2004. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução – RE nº 89, de 16 de março de 2004. Lista de Registro Simplificado de Fitoterápicos. Brasília.
- European Pharmacopoea 2001. Strasbourg. Council of Europe. p. 973, Supplement.
- Capasso R, Izzo AA, Pinto L, Bifulco T, Vitobello C, Mascolo N 2000. Phytotherapy and quality of herbal medicines. *Fitoterapia 71*: S58-S65.
- Calixto JB 2000. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (Phytotherapeutic agents). *Braz J Med Biol Res 33*: 179-189.
- Choi DW, Kim JH, Cho SY, Him DH, Chang SY 2002. Regulation and quality control of herbal drugs in Korea. *Toxicology 181-182*: 581-586.
- Cordeiro CHG, Chung MC, Sacramento LVS 2005. Interações medicamentosas de fitoterápicos e fármacos: *Hypericum perforatum* e *Piper methysticum*. *Rev Bras Farmacogn 15*: 272-278.
- Crippa F 1978. Problems of pharmaceutical technics with plant extracts. *Fitoterapia 49*: 257-263.
- Desai AK, Grossberg GT 2003. Herbals and botanicals in geriatric psychiatry. *Am J Geriatr Psychiatry 11*: 498-506. Farmacopéia Brasileira 1977. 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu.
- Farmacopéia Brasileira 2004. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, parte II, quinto fascículo.
- Melo JG, Nascimento VT, Amorim ELC, Andrade Lima CS, Albuquerque UP 2004. Avaliação da qualidade de amostras comerciais de boldo (*Peumus boldus* Molina), pata de vaca (*Bauhinia* spp) e ginko (*Ginkgo biloba* L). *Rev Bras Farmacogn 14*: 111-120.
- Mousinho MC, Oliveira F 1986. Identificação de alcalóides xantícos do guaraná (*Paulinnia cupana* KBH) por cromatografia em camada delgada em amostra de urina. *Rev Bras Farmacogn 1*: 35-44.
- Newal CA, Anderson LA, Phillipson JD 2002. *Fitoterapia – guia para o profissional de saúde*. São Paulo: Editorial Premier.
- Petrovick PR, Ortega GG, Bassani VL 1997. From a medicinal plant to a pharmaceutical dosage form. A (still) long way for the Brazilian medicinal plants. *Ciência e Cultura 49*: 364-368.
- Schulz V, Hansel R, Tyler VE 2002. *Fitoterapia Racional*. São Paulo: Editora Manole Ltda.
- Simões CMO, Farias MR 2002. Equivalência terapêutica entre medicamentos fitoterápicos. *Folha Médica 121*: 65-71.
- Sticher O 1993. Quality of ginkgo preparations. *Planta Med 59*: 2-11.
- Van Beek TA, Wintermans MS 2001. Preparative isolation and dual column high-performance liquid chromatography of ginkgolic acids from *Ginkgo biloba*. *J Chromatogr A 930*: 109-117.
- Wang FM, Yao TW, Zeng S 2003. Disposition of quercetin and kaempferol in human following an oral administration of *Ginkgo biloba* extract tablets. *Eur J Drug Metab Ph 28*: 173-177.
- Williamson EM 2001. Synergy and other interactions in phytomedicines. *Phytomedicine 8*: 401-409.