

**CONTROLE DE QUALIDADE E OBTENÇÃO DE EXTRATOS DE ESPÉCIES
VEGETAIS DO CERRADO BRASILEIRO COM POTENCIAL
ETNOFARMACOLÓGICO**

**QUALITY CONTROL AND OBTAINMENT OF EXTRACTS FROM PLANT SPECIES OF
BRAZILIAN CERRADO WITH ETHNOPHARMACOLOGICAL POTENTIAL**

CÁSSIA REGINA PRIMILA CARDOSO¹ HÉRIDA REGINA NUNES SALGADO², WAGNER VILEGAS³

¹ Universidade Federal de Mato Grosso, Sinop – MT; ² Faculdade de Ciências Farmacêuticas da UNESP, Araraquara – SP; ³ Campus Experimental do Litoral Paulista/UNESP, São Vicente – SP; e-mail de contato: cassiaregina2001@yahoo.com.br

Abstract

ANVISA (National Health Surveillance Agency) has published in recent years, laws that regulate the stages of the control of plants derivatives, including tests of macro and microscopic botanical identification, phytochemical determination, tests of authenticity and purity, microbiological testing, among other parameters. All the analytical procedures of plant drugs control required by law must be based on the Brazilian Pharmacopoeia, other Pharmacopoeias recognized by ANVISA or quality control guides of plant species published by the World Health Organization (WHO). This study aimed to evaluate some pharmacognostic, phytochemical screening and microbiological control of plant species of the Brazilian cerrado, which have indicated ethnopharmacological: *Byrsonima intermedia* (Bi), *Bauhinia holophylla* (Bh) and *Myrcia bella* (Mb). In addition, certain parameters were determined for obtaining extracts from plants sprayed and dried. These data are important to obtain new scientific information from Brazilian plants with therapeutic potential.

Keywords: Quality control. Herbal drugs. Microbiological assays. Brazilian cerrado. Pharmacopoeia.

Introdução

Todas as técnicas de controle de qualidade da matéria prima vegetal, exigidos pela legislação, devem ser como base a Farmacopéia Brasileira, outras farmacopéias reconhecidas pela ANVISA ou guias referentes ao controle de qualidade de espécies vegetais publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS). O conjunto de ensaios de qualidade consiste em identificação botânica macro e microscópica, prospecção fitoquímica, ensaios de autenticidade e pureza (cinzas, umidade, granulometria, características organolépticas), testes microbiológicos, entre outros (ANVISA, 2009).

As drogas vegetais podem conter uma grande quantidade de fungos e bactérias (10^4 UFC/g e 10^5 UFC/g, respectivamente), provenientes do solo, da microflora natural de certas espécies ou introduzida pela manipulação (FARIAS, 2001). Os contaminantes comuns, em certas condições de produção e armazenamento, podem desenvolver-se na droga vegetal, acentuando o processo de degradação e perda de princípios ativos. A RDC 48/2004 recomenda que a pesquisa de contaminantes microbiológicos deva estar de acordo com a Farmacopéia ou com as recomendações da OMS. Os limites adotados pela OMS em 1988 variam conforme o tratamento ou aplicação da droga vegetal em questão. Em geral, para materiais destinados ao uso interno, os limites são: bactérias aeróbias (máximo 10^5 UFC/g); bolores e leveduras (máximo 10^3 UFC/g); *Escherichia coli* (máximo 10 UFC/g); outras enterobactérias (máximo 10^3 UFC/g), *Salmonella* (ausência); *Pseudomonas aeruginosa* (ausência); *Staphylococcus aureus* (ausência).

Material e métodos

O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Controle de Fármacos e Medicamentos/FCFar da Universidade Júlio de Mesquita Filho - SP. As folhas foram coletadas na região de Itirapina – SP, nos meses de setembro, outubro e novembro de 2011 (período considerado de baixa umidade no ambiente). As exsiccatas foram depositadas no Herbário HUEC, em Campinas – SP. As plantas foram secas em estufa sem circulação de ar, a 37 °C, por 5 dias e submetidas à pulverização em moinho de facas. Os pós foram então analisados.

1. Controle farmacognóstico:

a. Determinação de perda de água em estufa: Para cada amostra foram preparados 3 pesa-filtros em estufa a 100 °C por 30 minutos. Seus pesos vazios foram anotados e os mesmos guardados em dessecador. A massa de 4 g de droga foi pesada e dessecadas nos pesa-filtros a 100 °C, realizando a leitura de peso a cada hora (por 5 horas, ou até peso constante). Os resultados foram expressos em porcentagem (% p/p) de água e substâncias voláteis.

b. Determinação da densidade aparente não compactada: Foi utilizada uma proveta vazia de 100 mL, previamente pesada. A mesma foi preenchida com droga vegetal pulverizada até o volume total, sem compactação ou pressão.

c. Determinação de extrativos em álcool (a frio): Uma massa de 4 g de cada droga foi macerada com 100 mL de solvente especificado, por 6 horas em temperatura ambiente e agitação frequente e deixada em repouso por 18h. A solução foi filtrada e 25 mL do filtrado para a cápsula

de porcelana e evaporar até a secura em banho-Maria. A secagem do resíduo foi realizada a 105 °C (estufa) por 6h.

d. Teor de cinzas totais e insolúveis em ácido: Os resultados foram expressos em porcentagem, com referência à massa inicial da droga vegetal, de acordo com a Farmacopéia Brasileira (1988).

e. Triagem cromatográfica e química: Cada extrato foi submetido a uma triagem cromatográfica por cromatografia em camada delgada e testes químicos para os marcadores (Wagner et al., 1984), a fim de se determinar a classe de produtos naturais presentes.

2. *Obtenção dos extratos*: Os extratos foram obtidos com a utilização de etanol 70 % e os seguintes métodos: a) Maceração (1:30 m/v; 40 °C; agitação); b) Remaceração (1:90 em 3 x; TA; repouso); c) Percolação (1:100 m/v; TA; 24 h); d) Percolação, nas mesmas condições em com variação do volume de solvente (gradativamente, de 1:90 a 1:50 m/v).

2. *Controle microbiológico*:

a. *Contagem de formas viáveis*: O método utilizado para a contagem de micro-organismos (aeróbios, bolores e leveduras) consistirá na técnica de semeadura em profundidade (MERCK, 1989), respeitando condições de temperatura, meio, oxigênio e tempo de incubação, favorecendo o crescimento e a contagem das colônias. Após a incubação, foram determinadas unidades formadoras de colônias por unidade de peso (UFC/g).

b. *Pesquisa de patógenos específicos*: A pesquisa de patógenos específicos consistiu no isolamento e diferenciação, visando a identificação, utilizando provas bioquímicas e sorológicas do microorganismo em questão (enterobactérias, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Staphylococcus aureus*).

Resultados e discussão

Os parâmetros de qualidade farmacognóstica apresentaram os resultados expressos na tabela 1. Estes dados favorecem a obtenção de novas informações sobre estas espécies vegetais.

Tabela 1. Parâmetros de qualidade farmacognóstica de drogas vegetais.

Espécies	Teor de umidade (%)	pH do infuso	Cinzas totais (%)	Cinzas insolúveis (%)	Extrativos EtOH (%)	Extrativos EtOH 70 (%)
Mb	11,71 ± 1,46	6,3 ± 0,08	9,05 ± 0,05	1,53 ± 0,02	22,0 ± 0,54	26,7 ± 0,82
Mh	13,99 ± 1,26	6,2 ± 0,10	6,27 ± 0,01	0,49 ± 0,01	23,4 ± 1,22	23,8 ± 1,00
Bi	11,41 ± 1,4	5,7 ± 0,11	6,3 ± 0,05	3,7 ± 0,03	22,3 ± 1,82	29,6 ± 0,51

O estudo comparativo de diferentes variáveis e seleção do melhor método extrativo basearam-se em dois critérios: a) rendimento; b) perfil cromatográfico em camada delgada para os principais marcadores, previamente determinados por triagem química convencional. Os resultados de rendimento, de acordo com os métodos testados e suas variáveis, estão na tabela 2.

Tabela 2. Rendimentos dos extratos e processos escolhidos para a triagem fitoquímica.

Espécies	Maceração (%)	Remaceração (%)	Percolação 1:100 (P) (%)	Percolação variável (%)	Homogênea (%)	Processo escolhido
Mb	29,1 ± 1,1	22,6 ± 0,7	28,3 ± 0,5	25,1 ± 1,3	27,9 ± 0,5	Maceração
Bi	32,6 ± 1,1	36,1 ± 0,6	32,7 ± 0,8	31,1 ± 0,6 (1:90)	35,4 ± 0,4	Remaceração
Bh	22,1 ± 0,7	18,2 ± 0,2	22,9 ± 1,3	22,3 ± 0,3	22,8 ± 0,5	Percolação comum

Os extratos apresentaram, nos testes químicos, prevalência qualitativa de taninos e flavonóides, o que justifica as atividades etnofarmacológicas das espécies (cicatrizantes, anti-inflamatórias, antidiarreicas, etc.).

Na análise microbiológica, foram realizados os seguintes ensaios: contagem do número total de microrganismos, pesquisa de *Salmonella* sp. e *Escherichia coli* e pesquisa de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Os patógenos estiveram ausentes e o número de formas viáveis se apresentou dentro dos limites permitidos ($\leq 10^5$ UFC/g). Os resultados de umidade e presença de micro-organismos ressalta que o processamento está adequado para essas espécies.

Referências bibliográficas

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Consulta pública nº 35**, 12 de junho de 2009. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, 23 de julho de 2009.

FARIAS, M.R. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 3. ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. UFRGS/EDUFSC, p. 199 - 122, 2001.