

DETERMINAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DE EXTRATOS SECOS VEGETAIS

SANTANA, Ingrid Garcia de¹; **SEVERO**, Izabella Lobo¹; **ALMEIDA**, Larissa da Cunha¹; **PEREIRA**, Paula Izabella R. de M¹; **SILVA**, Ezequiane Machado da², **BARA**, Maria Teresa Freitas³

Palavras-chave: controle de qualidade, extratos vegetais, plantas medicinais.

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da matéria-prima vegetal é a determinante inicial da qualidade do fitoterápico. O uso de extratos secos como matéria-prima de fitoterápicos apresenta muitas vantagens em relação ao uso da planta na forma de pó, tais como possibilidade de padronização dos ativos, maior conservação e possibilidade de eliminação de substâncias indesejáveis. Dentre os métodos analíticos aplicados nessas matérias-primas, a pesquisa fitoquímica dos marcadores não é suficiente para assegurar a autenticidade. A cromatografia em camada delgada é um método muito empregado no controle de qualidade, uma vez que fornece dados para a identificação e permitem inferências a respeito da pureza do material. Entretanto, para se trabalhar com extratos vegetais, não se encontram especificações farmacopéicas, as quais existem somente para certas plantas na forma de pó. Frente à inexistência de parâmetros de qualidade para extratos secos, torna-se bastante oportuno o estabelecimento dos perfis cromatográficos / "fingerprint", o que motivou a realização deste trabalho.

2. METODOLOGIA

2.1 – Amostragem

Foram adquiridos no comércio local, extratos secos de 14 plantas medicinais diferentes: alcachofra boldo, cáscara sagrada, castanha da índia, chá verde, espinheira santa, ginkgo, ginseng, hamamelis, hipérico, kava-kava, maracujá, sene e valeriana. As amostras foram acompanhadas de laudos de análise dos fornecedores e foram submetidas à reação qualitativa para identificação dos marcadores (COSTA, 2001).

2.2 – Determinação do perfil cromatográfico por CCD dos extratos secos

As etapas pertinentes às cromatografias em camada delgada (CCD) dos extratos foi adaptada dos métodos descritos para os pós das respectivas plantas, deste modo, preparo do extrato a ser aplicado, fase estacionária (sílica $F_{254\text{ nm}}$) - com 10 cm de comprimento, exceto para kava-kava, que a placa foi de 15 cm e eluída por 2 vezes - fase móvel e revelador foram empregados conforme Wagner & Bladt, 2001 ou British Pharmacopoea, 2007. Os perfis foram investigados e os R_f (fator de retenção) foram calculados. Padrões de trabalho (Sigma) foram usados como referências (ácido caféico, ácido clorogênico, ácido gálico, anisaldeído, escina, isovitexina, rutina, vanilina, vitexina).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 – Determinação do perfil cromatográfico dos extratos secos

A análise dos perfis cromatográficos por CCD (Quadro 1) contribui na identificação do marcador no extrato, embora não hajam especificações farmacopéicas. Sugere-se o seguinte perfil cromatográfico para os extratos secos analisados:

Extrato seco/ nome científico*/n° amostra	Fase móvel / Revelador	Rf / perfil/ marcador
Alcachofra (<i>Cynara scolymus</i>) – 03 amostras	acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) / NP e LUV 365 nm	Bandas azuis fluorescentes (<u>ácido clorogênico</u> - Rf ~ 0,45; <u>ácido isoclorogênico</u> - Rf ~ 0,8; e <u>ácido caféico</u> - Rf ~ 0,9. Uma banda amarela da luteolina (Rf~ 0,6) pode ser detectada.
Boldo (<i>Peumus boldus</i>) – 02 amostras	acetato de etila: acetona-metanol: dietilamina (45:30:20:5) / NP e LUV 365 nm + Dragendorff SR	Banda azul violácea fluorescente (Rf ~ 0,5), correspondente à <u>boldina</u> . Ao nebulizar Dragendorff SR a boldina apresenta coloração alaranjado-castanha.
Cáscara sagrada (<i>Rhamnus purshiana</i>) – 09 amostras	acetato de etila: metanol: água (100:17:13) / NP e LUV 365 nm	Banda amarela fluorescente do <u>casarosídeo A</u> e B, com valor de Rf ~ 0,1-0,15; cascarosídeos C e D (Rf 0,2-0,25). Bandas adicionais são detectadas com Rf 0,3 a 0,8.
Castanha-da-Índia (<i>Aesculus hippocastanum</i>) – 03 amostras	n-butanol: ácido acético glacial: água (50:10:40) / LUV 254 nm + anisaldeído SR (100 °C - 5 minutos)	Sob luz ultravioleta (254nm) observa-se uma banda principal da <u>escina</u> (Rf ~ 0,8). Ao nebulizar anisaldeído SR, a banda da escina, apresenta coloração violeta-azulada. Observam-se bandas adicionais de coloração marrom-avermelhada (Rf ~ 0,9) e de coloração cinza-acastanhada (Rf ~ 0,6).
Chá verde (<i>Camelia sinensis</i>) – 02 amostras	acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) / NP e LUV 365 nm	Aparecem bandas azuis fluorescentes, com Rf ~ 0,79; Rf ~ 0,67 e Rf ~ 0,23 (indicativa de <u>polifenóis</u>); e bandas amarelas com Rf ~ 0,72; Rf ~ 0,57 e Rf ~ 0,47 (flavonóides).
Espinheira santa (<i>Maytenus ilicifolia</i>) – 01 amostras	acetato de etila: ácido fórmico: água (95:5:5) / LUV 254 nm + vanilina sulfúrica SR (110°C - 10 minutos)	Sob LUV 254nm observa-se duas manchas de coloração bordô (Rf ~ 0,70 - <u>epicatequina</u> e Rf ~ 0,80 - <u>catequina</u>). Após nebulizar vanilina sulfúrica SR estas manchas apresentam coloração bordô intensa.
Ginkgo (<i>Ginkgo biloba</i>) – 05 amostras	acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial: água (100:11:11:26) / NP e LUV 365 nm	Observa-se uma mancha amarelada com Rf abaixo da banda da rutina (Rf ~ 0,45); uma banda azul fluorescente intensa do <u>ácido clorogênico</u> (Rf ~ 0,55). Adicionalmente manchas amarelas-esverdeadas são detectadas.
Ginseng (<i>Panax ginseng</i>) – 02 amostras	acetato de etila: água: butanol (25:50:100) / anisaldeído SR (100°C - 5 minutos)	Observa-se uma mancha de coloração verde-acinzentada correspondente ao <u>ginsenosídeo Rb1+Rb2</u> (Rf 0,11). Outras manchas podem ser detectadas, uma logo acima da escina de cor verde-acinzentada, Rf 0,25; acima desta outra mancha violeta (Ginsenosídeo Rd) – Rf 0,45. Acima da metade do cromatograma, apresentou uma mancha violeta (Ginsenosídeo Re)- Rf 0,54; em seguida uma mancha violeta clara (Ginsenosídeo Rf) – Rf 0,74; finalmente, uma mancha violeta próximo ao topo e com Rf 0,91 (Ginsenosídeo Rg1+Rg2).
Hamamélis (<i>Hamamelis</i>)	acetato de etila: ácido fórmico: água (80:10:10) /	Aparecem duas manchas de coloração azul-escuro na parte superior do cromatograma,

<i>virginiana</i>) – 01 amostra	cloreto férrico SR em metanol	sendo uma, do <u>ácido gálico</u> (Rf ~ 0,9).
Hipérico (<i>Hypericum perforatum</i>) – 03 amostras	ácido fórmico anidro: água R: acetato de etila (6:9:90) / NP e LUV 365 nm	Observa-se no terço inferior da placa, bandas fluorescentes laranja-avermelhadas da rutina e <u>hiperosídeo</u> ; na parte mais baixa do terço superior a banda da pseudohipericina; acima desta a banda da <u>hipericina</u> , ambas com fluorescência vermelha. Outras bandas amarelas ou azuis são visíveis.
Kava-kava (<i>Piper methysticum</i>) – 03 amostras	n-hexano: acetato de etila (70:30) / LUV 365 nm + anisaldeído-ácido sulfúrico (AS) - 100°C, 5 minutos	Observam-se sob LUV 365 nm, bandas com Rf ~ 0,33 (azul clara), ~ 0,46 (violeta), ~ 0,53 (amarelo esverdeado), ~ 0,93 (cinzas escuras). Após revelar com AS, as <u>lactonas</u> apresentam bandas vermelhas-violetas, Rf ~ 0,23, ~ 0,34 (<u>metisticina</u>), ~ 0,66 (<u>dihidrokavaina</u>), ~ 0,76 (<u>desmetoxikavaina</u>). Outras bandas aparecem.
Maracujá (<i>Passiflora</i> sp) – 03 amostras	acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético glacial : água (100:11:11:26) / NP e LUV 365 nm	Observam-se bandas amarelo-esverdeadas dos flavon-C-glicosídeos - Rf entre o ponto de aplicação até 0,65; iso-orientina é a banda mais intensa (Rf ~ 0,45); <u>bandas esverdeadas de isovitexina</u> (Rf ~ 0,7) ou <u>vitexina</u> (Rf ~ 0,8). Bandas adicionais podem ser detectadas.
Sene (<i>Cassia angustifolia</i>) – 01 amostra	n- propanol: acetato de etila: água (40:40:30) / solução de ácido nítrico a 25% (120°C -10 minutos) + solução de hidróxido de potássio a 5%	Observam-se duas bandas castanho-amareladas de Rf ~ 0,1 - 0,2 (<u>senosídeo B</u>). Outras bandas podem ser observadas, de cor castanho purpúrea e Rf ~ 0,3 a 0,4 (senosídeo A) e Rf ~ 0,45 (senosídeo D).
Valeriana (<i>Valeriana officinalis</i>) – 02 amostras	Ciclohexano: metiletilcetona (80:20) / LUV 254 nm + solução de 2,4-dinitrofenilidrazina SR (100°C – 5 minutos)	Aparecerem quatro bandas principais, uma verde-acinzentada, na altura do anisaldeído, referente ao <u>valtrato</u> (Rf ~ 0,7); uma ocre, entre a vanilina e o anisaldeído, referente ao <u>diidrovaltrato</u> (Rf ~ 0,65) e uma azulada, na altura da vanilina, referente a <u>isovaleroxi-diidrovaltrato</u> (Rf ~ 0,4).

* Nomenclatura científica constante no laudo do fornecedor.

Quadro 1 - Caracterização por cromatografia em camada delgada dos extratos secos estudados.

Além de sugerir estes perfis, deve-se ressaltar que há uma necessidade de padronização destes insumos por parte dos fabricantes, uma vez que para a mesma planta estão disponíveis extratos com diferentes concentrações de ativos.

4. CONCLUSÃO

A necessidade de especificações para os extratos secos utilizados na área farmacêutica é urgente. A determinação dos perfis cromatográficos é útil na identificação dos extratos, embora ensaios complementares para determinar o teor de princípios ativos e a presença de contaminantes sejam essenciais no controle de qualidade destas matérias-primas vegetais.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

British Pharmacopoea, 2007 (CD-rom)

COSTA, A. F. *Farmacognosia Experimental*, Volume 3. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian. 2001.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant drug analysis: A thin layer chromatography atlas*. 2th. Berlin: Springer, 2001.

¹ Estagiários do Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos (LCQM / FF / UFG), ingrydgs@yahoo.com.br; iza_lobo@hotmail.com; lca.larissa@hotmail.com; paula_izabella@yahoo.com.br

² Farmacêutica do LCQM/FF/UFG, ezequisilva@bol.com.br

³ Orientadora / LCQM e Prof^a de Farmacognosia / FF / UFG, mbara@farmacia.ufg.br