



Revista Eletrônica de

FARMÁCIA

Electronic Journal of Pharmacy



Referência:

Publicação da Faculdade de Farmácia
Universidade Federal de Goiás (UFG)
Volume XIII, número 4, 2016
REF – ISSN 1808 – 0804
<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>





Revista Eletrônica de

FARMÁCIA

Electronic Journal of Pharmacy

Volume XIII, n. 4, 2016

REF – ISSN 1808 – 0804

<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

REITOR

Orlando Afonso Valle do Amaral

FACULDADE DE FARMÁCIA

Maria Teresa Freitas Bara
Telma Alves Garcia

REVISTA ELETRÔNICA DE FARMÁCIA

EDITOR

Flávio Marques Lopes

DIRETORIA EXECUTIVA

Flávio Marques Lopes
Virginia Alves

EDITORES ASSOCIADOS

Marcela Jiron, Universidad de Chile, Chile
Francisca Cléa Florenço de Sousa, Universidade Federal do Ceará
Marta Maria de França Fonteles, Universidade Federal do Ceará
Silvana Nair Leite, Universidade Federal de Santa Catarina
Valdes Roberto Bollela, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP
Ester Massae Okamoto Dalla Costa, Universidade Estadual de Londrina
Silvania Maria Mendes Vasconcelos, Universidade Federal do Ceará
Luzia Kalyne Almeida Moreira Leal, Universidade Federal do Ceará
Jacqueline Costa Teixeira Caramori, Universidade Estadual Paulista - UNESP
Divaldo Pereira de Lyra Jr., Universidade Federal de Sergipe, Brasil
André de Oliveira Baldoni, Universidade Federal de São João del Rei (UFSJ), Brasil
Oswaldo Freitas, USP, Brasil
Valdir Cechinel Filho, UNIVALI, Brasil

CORPO EDITORIAL CIENTÍFICO

Ieda Maria Barbosa Aleluia, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Brasil
Nicolina Silvana Romano-Lieber, Faculdade de Saúde Pública - USP
Rosuita Fratari Bonito, Universidade Federal de Uberlândia
Rafael Linden, Universidade Feevale
Luciano de Oliveira Siqueira, Universidade de Passo Fundo
Cristiane - Barelli, Universidade de Passo Fundo, Brasil
Camilo Molino Guidoni, State University of Londrina, Brasil
Denis de Melo Soares, Universidade Federal da Bahia, Brasil
Gilberto M. S. Silva, Fiocruz, Brasil
Danielle Macêdo Gaspar, Universidade Federal do Ceará
Nirla Rodrigues Romero, Universidade Federal do Ceará
Mirian Parente Monteiro, Universidade Federal do Ceará
Wellington Barros da Silva, Universidade Federal de Sergipe
Selma Rodrigues de Castilho, Universidade Federal Fluminense

AVALIADORES

Edna Suyenaga, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Marco Peres, Universidade Federal de Goiás
Thais Nascimento, Université Paris-Sud 11
Francilene da Silva, Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Ângelo Jesus, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto
Adriano Max Reis, Universidade de São Paulo
Thalyta Araújo Santos, Universidade Federal de Goiás
Helber Costa, Universidade Federal do Espírito Santo
Joelmir Silva, Universidade Federal da Paraíba

ASSESSORIA CIENTÍFICA

Ester Massae Okamoto Dalla Costa, Universidade Estadual de Londrina
Paulo Sergio Dourado Arrais, Universidade Federal do Ceará
Harnoldo Colares Coelho, Universidade de São Paulo

SECRETÁRIA EXECUTIVA

Márcya Cristina Gomes de Oliveira

ESTAGIÁRIOS

Gabriela Guimarães Bessa, Universidade Federal de Goiás
Jânio Barbosa Pereira Júnior, Universidade Federal de Goiás

REVISÃO

Bruna Mundim Tavares (Português)
Fabiene Riány Azevedo Batista (Português)
Janaynne C. do Amaral (Português)
Pedro Augusto de Lima Bastos (Inglês)
Sara Guiliana G. Belaonia (Espanhol)

PROJETO GRÁFICO

Igor Oliveira Augstroze Aguiar

EDITORIAÇÃO

Ricardo Rafael de Almeida Campos

PADRONIZAÇÃO EDITORIAL

Divisão de Periódicos – CEGRAF/UFG

APOIO ESPECIAL

Programa de Apoio às Publicações Periódicas Científicas (PROAPUPEC/UFG)

INDEXADA EM:

Directorio de Publicaciones Científicas Seriadadas de America Latina (LATINDEX)
Directory of Open Access Journals (DOAJ)
Biblioteca do Centro Universitário da Grande Dourados
EBSCOhost Online Research Databases
Directory of Open Access Scholarly Resources (ROAD)

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Seção de Normalização CEGRAF/ UFG

R454 Revista Eletrônica de Farmácia [Recurso eletrônico] = Electronic
Journal of Pharmacy. v. 13, n. 4 (2016) -. Goiânia : UFG, 2016.

Trimestral

Disponível em: <<http://revistas.ufg.br/index.php/REF/index>>.

ISSN: 1808-0804

1. Revista Eletrônica de Farmácia. 2. Universidade Federal de Goiás.
3. Faculdade de Farmácia. I. Título.

CDU 615.12

Catálogo na fonte: Carminda de Aguiar Pereira CRB12974 e Natalia Rocha CRB1 3054

CONTATO

Revista Eletrônica de Farmácia, Faculdade de Farmácia
Rua 240, esquina com 5ª Avenida, s/n, Setor Leste Universitário, CEP: 74605-170
Goiânia/Goiás - Brasil.
Telefone: (62) 3209 6452

SUMÁRIO

INFLUÊNCIA DOS EXCIPIENTES NA DISSOLUÇÃO IN VITRO DOS FÁRMACOS A PARTIR DE CÁPSULAS GELATINOSAS DURAS CONTENDO CETOPROFENO 50 MG;	176
DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMULAÇÃO TÓPICA DE EXTRATO DE UVARANA PARA TRATAMENTO DE FERIDAS;.....	191
PROBLEMAS FARMACOTERAPÊUTICOS EM IDOSOS DE UMA UNIDADE DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE DE MINAS GERAIS;.....	201
CHEMICAL INTERACTION BETWEEN <i>Struthanthus marginatus</i> (Desr.) Blume AND TWO DIFFERENT HOSTS;.....	212
AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO INFUSO DE MALVA-SANTA <i>Plectranthus barbatus</i> (Lamiaceae) SOBRE O CICLO CELULAR DE <i>Allium cepa</i> ;	220
ESTUDO DA ANATOMIA FOLIAR E CAULINAR E ANÁLISE DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E CASCAS DOS FRUTOS DE <i>Citrus medica</i> L.	229

INFLUÊNCIA DOS EXCIPIENTES NA DISSOLUÇÃO *IN VITRO* DOS FÁRMACOS A PARTIR DE CÁPSULAS GELATINOSAS DURAS CONTENDO CETOPROFENO 50 MG

Joel Rocha da Silva^{1*}, Erick de Oliveira Lemes¹, Daiana da Silva Vargem¹

¹Faculdade Anhanguera de Anápolis

*E-mail: jo.rochas@hotmail.com

Submetido em: 11/01/2015

Aceito em: 19/05/2016

Publicado em: 31/12/2016

Resumo

O presente estudo reporta os resultados comparativos obtidos por meio da avaliação da cinética e da eficiência de dissolução do cetoprofeno a partir de três lotes com diferentes formulações sob a forma de cápsula, alternando as quantidades de excipientes que as compõem. A análise estatística dos valores de eficiência de dissolução apontou diferenças significativas entre os perfis de dissolução dos produtos 002/12 e 001/12, entretanto, não foi observada diferença significativa entre os valores de eficiência de dissolução para os produtos 003/12 e 001/12. Os parâmetros cinéticos apontaram para melhor desempenho do produto 003/12 em relação ao produto 002/12, podendo-se afirmar que os excipientes interferem na dissolução *in vitro* de cápsulas do medicamento cetoprofeno.

Palavras-chave: Cápsulas, cetoprofeno, dissolução, excipientes, influência.

Influence of excipients on *in vitro* drug dissolution of hard gelatin capsules containing ketoprofen 50 mg

Abstract

This study reports the comparative results of the evaluation of the dissolution efficiency and dissolution kinetic of ketoprofen from three batches with different formulations in the form of capsule, alternating the quantities of excipients that compose it. The statistical analysis of the dissolution efficiency values obtained showed significant differences between the dissolution profiles of products 002/12 and 001/12, however, no significant difference was observed between the values of dissolution efficiency for products 003/12 and 001/12. The kinetic parameters obtained pointed to a better performance of the product 003/12 in relation to the product 002/12. Therefore, it can be said that the excipients interfere on *in vitro* dissolution of capsules of the drug ketoprofen.

Keywords: Capsules, Ketoprofen, Dissolution, Excipients, Influence.

Influencia de los excipientes en la disolución *in vitro* de fármacos a partir de cápsulas gelatinosas duras que contienen 50 mg de ketoprofeno

Resumen

En este trabajo presentamos los resultados comparativos obtenidos a través de la evaluación de la cinética y de la eficacia de la disolución del ketoprofeno, a partir de tres lotes con diferentes formulaciones en forma de cápsulas, alternando las cantidades de excipientes que lo componen. El análisis estadístico de los valores de eficiencia de la disolución indicó diferencias significativas entre los perfiles de disolución de los productos de 002/12 y 001/12, sin embargo, no fue observada diferencia significativa entre los valores de eficiencia de disolución de los productos 003/12 y 001/12. Los parámetros cinéticos obtenidos señalaron mejor

rendimiento del producto 003/12 002/12, por eso, se puede decir que los excipientes interfieren en la disolución *in vitro* de las cápsulas de la droga ketoprofeno.

Palabras clave: Cápsulas, Ketoprofeno, Disolución, Excipientes, Influencia.

INTRODUÇÃO

Na literatura, os primeiros estudos sobre absorção de compostos exógenos começaram a ser publicados no início do século XX, e, em 1945, foram descritos dados importantes sobre absorção de fármacos a partir de formas farmacêuticas. Tais estudos deram origem ao termo dissolução *in vitro*, referindo-se ao ensaio analítico com coletas em múltiplos pontos para a avaliação da dissolução de uma determinada substância ativa, comparando-se duas formulações⁽¹⁾.

O tradicional conceito de excipientes vem sofrendo grande evolução. Sabe-se que hoje o comportamento da forma farmacêutica é dependente de variáveis do processo produtivo, da interação entre seus vários excipientes e do impacto dos mesmos sobre o ativo e a forma farmacêutica. Excipientes, anteriormente vistos como meras substâncias facilitadoras da administração e estabilizadoras da preparação, são considerados, atualmente, constituintes essenciais, que garantem o desenvolvimento, a segurança do medicamento e a obtenção do efeito terapêutico, devendo ser, portanto, objeto de importantes considerações durante a fase de pré-formulação⁽²⁾.

Os excipientes são responsáveis por inúmeras reações adversas ligadas a medicamentos, um problema que, segundo o autor, não é abordado de forma adequada no momento das avaliações de casos suspeitos de reações adversas a medicamentos⁽³⁾.

Dentre todas as considerações a serem feitas sobre os excipientes no contexto da farmacotécnica, cabe destacar a influência exercida por eles na biodisponibilidade dos fármacos incorporados em formas farmacêuticas sólidas. O tipo e a natureza dos excipientes utilizados na preparação de sólidos orais são dois dos fatores que determinam a velocidade e a extensão na qual o fármaco vai ser absorvido, uma vez que limitam a liberação e consequente dissolução do ativo⁽⁴⁾.

O ensaio de dissolução *in vitro* determina o percentual de fármaco liberado de sua forma farmacêutica no meio de dissolução, em período de tempo definido na monografia de cada produto, quando é submetido à ação de aparelhagem específica em determinadas condições experimentais. Constituem um dos instrumentos mais sensíveis para avaliação das propriedades biofarmacêuticas das preparações sólidas orais^(5,6).

O tipo e a quantidade de excipientes empregados na preparação de cápsulas exercem influência na biodisponibilidade dos fármacos, uma vez que poderão determinar as características de dissolução dos sistemas. Na liberação convencional devem ser empregados excipientes que não se oponham à liberação do ativo, contribuindo, portanto, para uma rápida dissolução^(6,7).

Nas cápsulas, é preciso ocorrer rompimento do invólucro, desagregação da massa e dissolução do fármaco. Os principais problemas relacionados à biodisponibilidade recaem sobre os medicamentos apresentados na forma sólida, uma vez que várias etapas precedem a dissolução⁽⁸⁾.

A cápsula gelatinosa dura é a forma oral de eleição na farmácia magistral. A facilidade no preparo da mistura de pós, que pode ser encapsulada sem envolver processos prévios de granulação ou compressão, aliada à possibilidade de preparações de um pequeno número de unidades posológicas, por lote, fazem com que a cápsula seja a fórmula farmacêutica de escolha para o preparo de medicamentos individualizados. Embora as cápsulas gelatinosas duras sejam consideradas simples, o desenvolvimento das formulações pode representar significantes desafios ao formulador, principalmente no que diz respeito à seleção dos excipientes^(9,10).

O objetivo do presente trabalho consiste em identificar possíveis discrepâncias entre perfis de dissolução de cápsulas contendo princípio ativo cetoprofeno 50 mg, um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não-esteróides (AINE), com efeitos analgésico, anti-inflamatório e antirreumático, produzido magistralmente alternando a quantidade de cada excipiente⁽¹¹⁾.

MATERIAL E MÉTODOS

Os equipamentos e acessórios utilizados para análise de perfil de dissolução do fármaco foram o Dissolutor Hanson Research, modelo SR116; balança analítica da marca Ohaus, modelo Explorer; Espectrofotômetro Shimadzu, modelo UV-1203; Termômetro digital Fisher Scientific; Seringas de vidro de 10 mL; Membranas de acetato de celulose (Millipore®) 45 µm; Balões volumétricos de 50 mL, 100 mL e 250 mL; Pipetas volumétricas de: 2, 3, 5 e 10 mL. O reagente utilizado foi o ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹. Utilizou-se substância química de referência cetoprofeno, doado pelo laboratório Neoquímica S.A, uma indústria farmacêutica com sede no Distrito Agroindustrial de Anápolis, Goiás (DAIA). A substância química utilizada na análise foi certificada pela empresa Cadila Healthcare Limited, com potência de 99,97%.

Durante a pesquisa foram manipuladas, magistralmente no laboratório da Faculdade Anhanguera de Anápolis, cápsulas duras contendo cetoprofeno 50 mg e excipientes, a saber: lactose, amido de milho, glicolato amido de sódio, dióxido de silício, talco e estearato de magnésio. Foram desenvolvidos farmacologicamente três lotes, cada um contendo 200 cápsulas contendo cetoprofeno, alternando os seus excipientes. Todas as matérias primas citadas anteriormente foram compradas em farmácias de manipulação de Anápolis, Goiás.

Um processo de aperfeiçoamento requer a produção de uma série de formulações, as quais se varia a concentração ou o tipo de excipiente. Após a análise comparativa é possível eleger-se a formulação que apresenta as melhores características, ou o maior número de características desejáveis.

Existem três categorias de ensaio de dissolução para medicamentos de liberação imediata, os quais permitem avaliar e comparar a cinética e a eficiência de dissolução de um determinado produto: ensaio de dissolução de um único ponto; ensaio de dissolução de dois pontos e perfil de dissolução⁽¹²⁾.

O teste rotineiro deve ser conduzido por procedimento e aparelhagem consoante com as exigências da Farmacopeia Brasileira ou de outras fontes de consulta similares, em comprimidos ou cápsulas simultaneamente. Estas matrizes são adicionadas individualmente a seis recipientes (cubas de dissolução) contendo um volume medido de meio de dissolução, a 37°C, convenientemente degaseificado. No momento da adição das matrizes (tempo zero), inicia-se a agitação do meio, mediante cestas rotatórias ou pás, com velocidade pré-fixada e durante o intervalo de tempo especificado na monografia correspondente. São coletadas alíquotas do meio de dissolução de cada cuba de dissolução ao final do tempo especificado, ou em intervalos regulares menores, no caso de se desejar traçar o perfil de dissolução do produto. Após a filtração da alíquota, fazem-se diluições, se necessário, e a concentração do fármaco é determinada mediante uma técnica de detecção adequada. O resultado final do teste de dissolução deve ser apresentado sob a forma de porcentagem de substância ativa dissolvida em um determinado intervalo de tempo, especificado na monografia do produto^(12,13).

A velocidade de dissolução e a extensão da absorção são influenciadas por diferentes parâmetros encontrados na fisiologia do trato digestório, são eles: motilidade gastrointestinal, fluxo sanguíneo, PH, capacidade tamponante, presença de tensoativos e volume luminal. Esses fatores podem ser alterados de acordo com o estado alimentado ou em jejum do indivíduo⁽¹⁴⁾.

No presente trabalho, os autores utilizaram uma formulação base contendo como princípio ativo cetoprofeno 50 mg, um fármaco da classe dos anti-inflamatórios não-esteróides (AINE), com efeitos analgésico, anti-inflamatório e antirreumático. Atua por inibição da produção de prostaglandinas e agregação plaquetária⁽¹¹⁾.

Com relação ao critério de escolha dos excipientes, procurou-se utilizar aqueles que, do ponto de vista teórico, pudessem auxiliar de uma forma ou de outra na dissolução das cápsulas. A partir da formulação inicial, a quantidade de excipientes foi alterada, respeitando a concentração máxima e mínima e reorganizando-as, obtendo-se mais três formulações com seus excipientes e respectivas proporções, expressos em mg que se encontram descritas abaixo.

As cápsulas tiveram a seguinte formulação:

Formulação 1. (Referência) Lote 001/12

Cetoprofeno	50 mg
Amido de milho	7mg
Lactose	125 mg
Glicolato amido Sódico	4,4 mg
Talco uso farmacêutico	9,25 mg
Dióxido de silício coloidal	0,6 mg
Estearato de magnésio	3,75 mg

Formulação 2. Lote 002/12

Cetoprofeno	50 mg
Amido de milho	65 mg
Lactose	65 mg
Glicolato amido Sódico	15 mg
Talco uso farmacêutico	50 mg
Dióxido de silício coloidal	2,5 mg
Estearato de magnésio	2,5 mg

Formulação 3. Lote 003/12

Cetoprofeno	50 mg
Amido de milho	60 mg
Lactose	120 mg
Glicolato amido Sódico	5, 65 mg
Talco uso farmacêutico	10, 35 mg
Dióxido de silício coloidal	0,5 mg
Estearato de magnésio	3,5 mg

A curva analítica foi obtida a partir das soluções-padrão, preparadas com padrão de referência nas concentrações 0,005 mg.mL⁻¹; 0,010 mg.mL⁻¹; 0,015 mg.mL⁻¹ e 0,020 mg.mL⁻¹ em solução de ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹. A leitura foi realizada por espectroscopia de absorção no ultravioleta em 227 nm. Os ensaios realizados nas amostras de cetoprofeno foram os descritos no sexto fascículo da Farmacopeia Brasileira (1988), utilizando-se a curva analítica para quantificação. Para a determinação

do teor de cetoprofeno em cada amostra foi removido o conteúdo de dez cápsulas, homogeneizado e pesado. Gerado um quantitativo suficiente para obter 15 mg de cetoprofeno. O quantitativo pesado foi transferido para balão volumétrico de 100 mL e o volume completado com solução de ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹. Foram feitas diluições sucessivas até concentração de 0,0015% (p/V) em cetoprofeno. A leitura foi realizada por espectroscopia de absorção no ultravioleta em 227 nm.

Para o ensaio de dissolução foram seguidas as recomendações da Farmacopeia Brasileira (2010), onde o meio de dissolução contém 900 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 mol.L⁻¹, temperatura do meio de dissolução: 37° C ± 0,5° C, a velocidade de agitação aproximadamente 50 RPM e tipo de agitado, aparato com duas pás.

Tempo de ensaio e coleta de amostras foram 45 minutos. Como não existe recomendação específica para os intervalos de tempo de coleta para perfil de dissolução, foram estabelecidos os seguintes intervalos: 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos. Para as análises das cápsulas de cetoprofeno, foram adicionadas seis cápsulas do mesmo produtor, sendo uma em cada cuba. Nos tempos 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 minutos, coletaram-se alíquotas de 10 mL utilizando-se seringa com filtro Millipore® 0,45 µm, sendo através dele feita a reposição com igual volume de meio nos intervalos de tempo determinados para cada cuba (desta forma, evitou-se a retirada de partículas que ainda estivessem em processo de dissolução). As alíquotas amostradas foram diluídas adequadamente com solução de ácido clorídrico 0,1mol. L⁻¹. A quantificação de cada alíquota foi determinada por espectrofotometria no UV em comprimento de onda de 227 nm, utilizando-se o mesmo solvente para ajuste do zero. Os valores obtidos para cada intervalo de coleta foram corrigidos considerando-se as alíquotas retiradas e expressos por meio de porcentagem em função do tempo ⁽¹⁰⁾.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Atualmente, não existem nas farmacopeias procedimentos para realização e avaliação do perfil de dissolução. Entretanto, a Resolução número 310 da ANVISA de 1º de setembro de 2004, apresenta um guia para realização deste tipo de estudo. Segundo essa resolução, nos casos em que a dissolução for muito rápida, apresentando valor igual ou superior a 85% de fármaco dissolvido, os fatores F1 (indica a porcentagem de diferença entre os dois perfis avaliados a cada tempo de coleta que corresponde a uma medida do erro relativo entre os perfis) e F2 (indica a similaridade da porcentagem dissolvida entre dois perfis) perdem seu poder discriminativo, não sendo necessário calculá-los. Nesses casos, deve-se comprovar a rápida dissolução dos produtos e mostrar a forma da curva, realizando coletas em, por exemplo, 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. Essa mesma resolução orienta que, para permitir o uso de médias, o coeficiente de variação para os primeiros pontos não deve exceder 20%. Para os demais pontos, considera-se o máximo de 10% ⁽¹⁵⁾.

A Tabela 1 apresenta as informações e resultados da comparação medicamento referência 1/ Medicamento teste 2. A Tabela 2 apresenta os valores corrigidos do medicamento de referência 1.

Tabela 1. Informações medicamento referência 1/ Medicamento teste 2.

Informações Gerais	Medicamento Referência	Medicamento Teste
Nome Comercial:	Cetoprofeno 1	Cetoprofeno 2
Fabricante:	Anhanguera	Anhanguera
Forma Farmacêutica:	Cápsula	Cápsula

continua...

Informações Gerais	Medicamento Referência	Medicamento Teste
Dosagem:	50mg	50mg
Nº do lote:	001/12	002/12
Data de Fabricação:	10/2012	10/2012

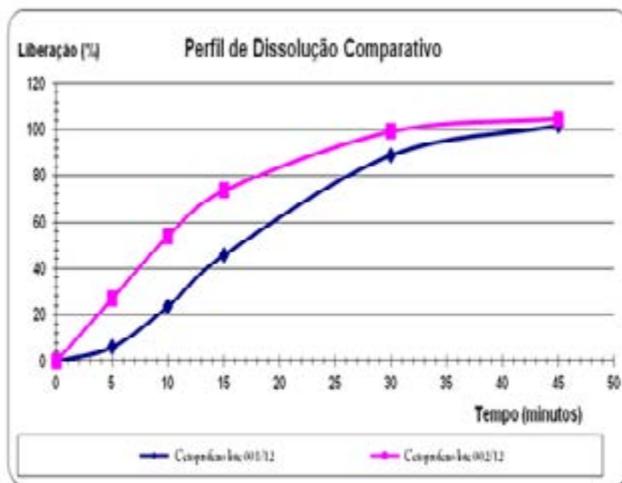
Tabela 2. Valores Corrigidos do Medicamento de Referência 1.

Temp/ Cuba	T1 5	T2 10	T3 15	T4 30	T5 45
01	4,6	22	43	85	106
02	5,8	16	39	79	102
03	7,6	23	48	94	103
04	6,8	34	63	91	99
05	7,4	22	37	84	90
06	4,3	21	41	98	106
X:	6,1	23	45	88	101
DPR (%):	23	24	20	7,9	5,9

Na Tabela 3 é possível observar os valores corrigidos do medicamento teste 2. O DPR nos dois primeiros tempos deverá ser $\leq 20,0\%$, exceto quando for o tempo de 15 minutos com liberação igual ou superior a 85% , deverá ser $\leq 10,0\%$, já nos três tempos posteriores, deverá ser $\leq 10,0\%$. A Tabela 4 mostra os padrões de liberação do Citoprofeno, testes 1 e 2.

Tabela 3. Valores Corrigidos do Medicamento Teste 2

Temp/ Cuba	T1 5	T2 10	T3 15	T4 30	T5 45
01	14	42	72	103	105
02	22	46	56	83	99
03	26	54	75	100	103
04	39	72	87	101	106
05	34	56	77	99	104
06	25	55	73	106	107
X:	27	54	73	99	104
DPR (%):	32	19	14	8,2	2,7

Figura 1. Perfil de Dissolução Comparativo.**Tabela 4.** Liberação do fármaco Cetoprofeno.

Tempo Minutos	Cetoprofeno 1	Cetoprofeno 2	Pontos para cálculo
0	0	0	-
10	23,57	54,04	sim
15	45,73	73,56	sim
30	88,87	99,17	sim
45	101,6	104,5	sim

Tabela 5. Comparação de perfis de dissolução.

Parâmetros	Critério de Aceitação	Resultados	Status
F2- fator semelhança	50 - 100	33,63	Em desacordo
F2- fator diferença – (Apenas para caráter informativo)	0 - 15	34,76	Não conforme
Liberação do fármaco: Med. Referência	Se o medicamento referência apresentar liberação $\geq 85\%$ em 15 minutos, isenção do cálculo f2.	45,73	Não se aplica
Liberação do fármaco: Med. Teste	Neste caso, o medicamento teste também deve apresentar o mesmo comportamento.	73,86	Não se aplica
$\geq 85\%$ em 30 min.	Dissolução Rápida	88,87- 99,17	De Acordo

Tabela 6. Tipos de Liberação.

Parâmetros	Critério de Aceitação	MR/ MC	MT	Resultados
≥ 85 % em 15 minutos	Dissolução muito rápida	45,7	73,6	Não se aplica
≥ 85 % em 30 minutos	Dissolução Rápida	88,9	99,2	De Acordo
Não se aplica a nenhum Dos critérios acima	Dissolução Normal	-	-	Não se aplica

O medicamento teste Cetoprofeno 50 mg cápsulas lote. 002/12, não apresentou perfil de dissolução semelhante ao medicamento de referência Cetoprofeno 50 mg cápsulas lote 001/12 (mesmo ativo), por não apresentar f2 dentro dos parâmetros especificados. Além disso, os medicamentos teste e referência apresentam DPR acima do especificado, sendo o medicamento teste para os tempos de 5 e 15 minutos e o medicamento de referência para os tempos de 5, 10, e 15 minutos, estando, portanto, em desacordo com a RDC Nº 31.

A Tabela 7 apresenta as informações e resultados da comparação medicamento referência 1/ Medicamento teste 3.

Tabela 7. Informações medicamento referência 1/ Medicamento teste 3.

Informações Gerais	Medicamento Referência	Medicamento Teste
Nome Comercial:	Cetoprofeno 1	Cetoprofeno 3
Fabricante:	Anhanguera	Anhanguera
Forma Farmacêutica:	Cápsula	Cápsula
Dosagem:	50 mg	50 mg
Nº do lote:	001/12	002/12
Data de Fabricação:	10/2012	10/2012

Tabela 8. Condições da Dissolução medicamento referência 1/ Medicamento teste 3.

Meio de Dissolução:	Tampão pH 7,5
Volume do Meio:	900 ml
Aparato:	2 - pás
Rotação:	50 rpm
Duração do Ensaio:	45 minutos
Temperatura:	37,0°C
Tempos de Coleta:	5; 10; 15; 30; 45
Tolerância:	Q ≥ 70,0 %

Tabela 9. Condições de Qualificação medicamento referência 1/ Medicamento teste 3.

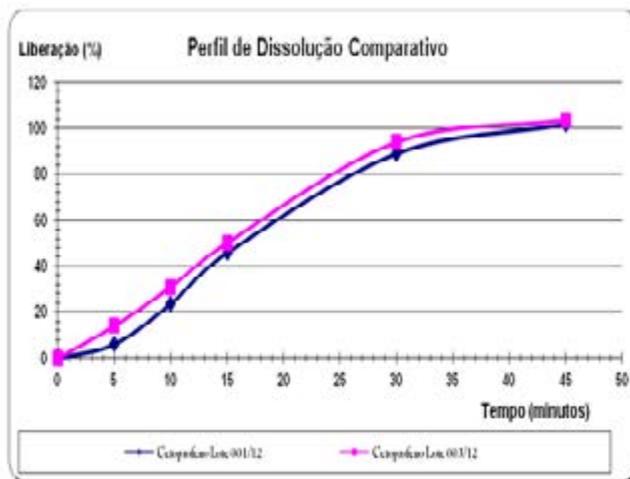
Método:	Espectrofotômetro
λ :	260 nm
Fase Móvel:	-
Coluna:	-
Fluxo:	-
Temperatura da Coluna:	-
Temp. comp. Amostras:	-
Volume de Injeção:	-

Tabela 10. Valores Corrigidos do Medicamento de Referência (*T=Tempo).

Temp/ Cuba	T1 5	T2 10	T3 15	T4 30	T5 45
01	4,60	22,4	43,8	85,6	106,7
02	5,78	16,9	39,5	79,2	102,4
03	7,62	23,9	48,6	94,1	103,7
04	6,76	34,1	63,0	91,9	99,6
05	7,38	22,4	37,8	84,5	90,6
06	4,3	21,5	41,7	98,0	106,5
X:	6,1	23,6	45,7	88,9	101,6
DPR (%):	23,1	24,2	20,3	7,91	5,90

Tabela 11. Valores Corrigidos do Medicamento Teste (*T=Tempo).

Temp/ Cuba	T1 5	T2 10	T3 15	T4 30	T5 45
01	9,17	26,5	49,8	100	103
02	11,9	28,9	50,4	97,9	104
03	13,2	25,5	42,2	93,9	103
04	15,9	38,4	66,6	103	105
05	23,1	46,0	60,0	91,8	104
06	10,5	20,0	31,8	75,7	102
X:	14,0	30,9	50,1	93,9	104
DPR (%):	36,0	30,9	24,7	10,6	1,08

Figura 2. Perfil de Dissolução Comparativo.**Tabela 12.** Liberação do fármaco cetoprofeno.

Tempo Minutos	Cetoprofeno 13	Cetoprofeno	Pontos para cálculo
0	0	0	-
5	6,08	14,00	sim
10	23,57	30,91	sim
15	45,73	50,15	sim
30	88,87	93,95	sim
45	101,59	103,58	sim

Tabela 13. Comparação de perfis de dissolução.

Parâmetros	Critério de Aceitação	Resultados	STATUS
F2- fator semelhança	50 - 100	61,65	De acordo
F2- fator diferença – (Apenas para caráter informativo)	0 - 15	10,07	Conforme
Liberação do Fármaco – Medicam. referência	Se o medicamento referência apresentar liberação $\geq 85\%$ em 15 minutos, isenção do cálculo f2.	45,73	Não se aplica
Liberação do fármaco – Medicam. teste	Neste caso, o medicamento teste também deve apresentar o mesmo comportamento.	50,15	Não se aplica
$\geq 85\%$ em 30 minutos	Dissolução Rápida	88,87 93,95	De Acordo

Tabela 14. Tipos de Liberação.

Parâmetros	Critério de Aceitação	MR/MC	MT	Resultados
≥ 85 % em 15 minutos	Dissolução muito Rápida	45,73	50,1	Não se aplica
≥ 85 % em 30 minutos	Dissolução Rápida	88,87	93,9	De Acordo
Não se aplica a nenhum dos critérios acima	Dissolução Normal	-	-	Não se aplica

O medicamento teste Cetoprofeno 50 mg cápsulas lote 003/12 apresenta perfil de dissolução semelhante ao medicamento de referência Cetoprofeno 50 mg cápsulas lote 001/12 (mesmo ativo), por apresentar f2 dentro dos parâmetros especificados. Porém, o medicamento de referência apresenta DPR acima do especificado para os tempos de 5, 10 e 15 minutos e o medicamento teste apresenta DPR acima do especificado para os tempos de 5, 10, 15 e 30 minutos, estando, portanto, em desacordo com a RDC Nº 31.

Durante toda análise as cápsulas manipuladas do lote 002/12 não conseguiram acompanhar o perfil de dissolução das cápsulas do produto de referência 001/12, apresentando uma acentuada liberação do fármaco para o meio. No entanto, as cápsulas do lote 003/12 apresentaram um comportamento muito próximo ao das cápsulas de referência, pois foi possível observar que a liberação do conteúdo dos produtos manipulados ocorreu de forma lenta e gradual para praticamente os mesmos intervalos de tempo, enquanto que em relação ao produto de referência, percebe-se nitidamente uma liberação muito rápida de fármaco nos primeiros trinta minutos de análise cápsulas 002/12, para só a partir de então apresentar uma liberação mais lenta.

Como interferentes mais comuns neste processo de dissolução é possível apontar o uso de excipientes variados e as diferentes técnicas de manipulação. A partir dos resultados obtidos é possível considerar que o método analítico desenvolvido e validado para quantificar Cetoprofeno *in vitro*, mostrou-se apropriado para a determinação do fármaco em cápsulas, apresentando exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação e linearidade adequadas.

As cápsulas estudadas atendem às especificações descritas em literaturas oficiais, salvo para o perfil de dissolução que não está descrito em nenhuma das farmacopeias, uma vez que não existe monografia a respeito do Cetoprofeno. A princípio, pode-se afirmar que a discrepância entre os perfis de dissolução dos produtos pode ser atribuída aos excipientes, pois foram empregados em concentrações diferentes. Para o produto 002/12 foram aumentadas as quantidades de excipientes: amido de milho, glicolato amido sódico, talco uso farmacêutico, dióxido de silício coloidal. Enquanto foram diminuídas as quantidades lactose e estearato. No entanto, as cápsulas lote 003/12, mesmo não sendo idênticas no seu conteúdo, porém apresentando quantidade excipientes semelhantes, acompanharam o perfil de dissolução da cápsula de referência, o que aprova a hipótese de serem os excipientes que interferiram no comportamento das cápsulas durante a análise.

O amido de milho é o diluente mais utilizado pelas indústrias farmacêuticas devido ao seu baixo custo e boa compatibilidade. O amido é um material hidrofílico que pode sofrer certo grau de gelatinização no meio fisiológico. As principais desvantagens do amido são elevadas umidade residual e escoamento pobre. Atualmente, existem derivados do amido obtidos por modificação física ou química que apresentam propriedades adequadas de compressão, fluxo e capacidade de desagregação. Um exemplo de amido modificado é o amido pré-gelatinizado, que apresenta bom fluxo, em proporções variadas, com lactose ou celulose microcristalina^(16,17).

A lactose é outro exemplo de excipiente farmacêutico bastante empregado em fórmulas sólidas. A grande vantagem da lactose é sua dissolução rápida em água. Porém, a lactose monoidratada amorfa possui baixa estabilidade frente à umidade e fluxo pobre, fatores que prejudicam a manipulação^(18,19,20).

O talco farmacêutico e o caulim farmacêutico são excipientes utilizados pelas farmácias magistrais como diluentes, pelos baixos custos. Apesar de não ser higroscópicos, possuem natureza hidrofóbica, sendo insolúveis em água, o que pode prejudicar a dissolução. Portanto, o uso dos mesmos como diluentes é desaconselhado. Outro problema, comum com excipientes de origem mineral é a possibilidade de ocorrer adsorção dos fármacos aos excipientes, com redução da biodisponibilidade⁽²⁰⁾.

O dióxido de silício coloidal, conhecido comercialmente como Aerosil, apresenta partículas pequenas e grande área superficial o que lhe confere boa capacidade de escoamento. Como o fluxo apropriado dos pós é o fator que exerce maior impacto no preenchimento uniforme das cápsulas, a associação de diluentes de fluxo livre como a lactose e a celulose microcristalina, com o Aerosil 200, na proporção de 0,2 até 15 p/p, contribui para a manutenção da uniformidade de conteúdo nas unidades posológicas. Outra aplicação vantajosa do Aerosil é como agente absorvente, ou seja, estabilizante de conteúdos higroscópicos, capaz de absorver água sem liquefazer-se^(21,22).

Lubrificantes como o ácido esteárico e os estearatos de cálcio e magnésio possuem natureza hidrofóbica e, portanto, influenciam de modo negativo na velocidade de dissolução, retardando-a. Por apresentarem-se na forma de pó fino, de pequenas dimensões, recobrem as demais partículas da preparação e dificultam a penetração da água e a molhabilidade dos pós. Assim, a velocidade de dissolução pode ser diminuída, bem como a biodisponibilidade do fármaco. De acordo com alguns autores, a adição de estearato de magnésio não deve ultrapassar de 1% p/p da formulação^(23,24).

Os diluentes desempenham papel essencial na liberação do fármaco, sendo que tal efeito é pronunciado nos casos de fármacos muito potentes, isto é, aqueles administrados em pequenas doses. Os diluentes apresentam comportamento diferenciado na presença de água, podendo sofrer solubilização (hidrossolúveis) ou intumescimento (hidrofilicos). Diluentes hidrofóbicos não se solubilizam em meio aquoso e podem formar grumos no meio. Na maioria das vezes, os diluentes representam a maior proporção em massa de uma fórmula farmacêutica, uma vez que são empregados para dar volume e possibilitar a manipulação. Assim, a natureza (hidrossolúvel, hidrofílica ou hidrofóbica) e a quantidade empregada na preparação, podem determinar a velocidade de dissolução dos fármacos^(25,26,27).

Embora os adjuvantes farmacotécnicos sejam considerados inertes do ponto de vista farmacológico, podem exercer influência significativa na velocidade de liberação do fármaco⁽²⁸⁾. A velocidade de dissolução do fármaco pode ser afetada de forma negativa caso a escolha dos adjuvantes de formulação seja inadequada, mesmo quando forem utilizados sólidos com tamanho de partícula apropriado⁽⁵⁾. Por isto, para o medicamento industrializado, quando ocorre qualquer alteração em sua formulação, registrada no Ministério da Saúde, deve ser avaliado o perfil de dissolução comparativo da nova formulação com a já registrada para os medicamentos manipulados. Não existe impedimento para a alteração de sua formulação, apesar de existirem parâmetros definidos para estabelecer os critérios de escolha dos excipientes e seus quantitativos. O tamanho das partículas que compõem a formulação também causa interferências na dissolução^(29,30,31).

A redução do tamanho de partícula conduz a um aumento de superfície específica do pó, ou seja, da relação da área de superfície por unidade de peso. Tanto as velocidades de dissolução e de absorção do fármaco como a uniformidade de conteúdo e estabilidade da forma farmacêutica são dependentes do grau de variação do tamanho da partícula, da distribuição de tamanho e das interações entre as superfícies sólidas. Em muitos casos, é necessário reduzir o tamanho das partículas, tanto do fármaco quanto de adjuvantes, procurando obter as características físico-químicas desejadas^(2,32).

Entre os excipientes que interferem na velocidade de dissolução dos fármacos, a partir de cápsulas de gelatinas duras, destacam-se: os diluentes, os lubrificantes, os desintegrantes. A presença de diluentes hidrossolúveis e hidrofilicos contribuem para aumentar a velocidade de dissolução dos fármacos^(33,34,35). Suas principais características são resumidas a seguir:

desintegrantes, facilitam a desintegração da forma, aumentando a superfície de contato com os fluidos e a velocidade de dissolução; tensoativos, podem melhorar a molhabilidade das partículas pouco solúveis, impedindo a formação de grumos e melhorando a dissolução; lubrificantes, apresentam natureza hidrofóbica; diminuem a molhabilidade das partículas e reduzem a velocidade de dissolução^(8,20).

CONCLUSÃO

A partir da análise estatística da regressão linear pode-se concluir que a formulação 002/12 não liberou o fármaco segundo modelo da formulação referência 001/12. Porém, a segunda formulação proposta 003/12 liberou o fármaco segundo modelo da formulação referência 001/12. Além disso, a análise estatística dos valores de ED% apontou diferenças significativas entre os perfis de dissolução dos produtos 002/12 e 001/12, entretanto, não se observou diferença significativa entre os valores de ED% para os produtos 003/12 e 001/12. Os parâmetros cinéticos apontaram para melhor desempenho do produto 003/12 em relação ao produto 002/12, podendo-se afirmar que os excipientes interferem na dissolução *in vitro* de cápsulas do medicamento Cetoprofeno.

REFERÊNCIAS

1. ABDU, H. M. Dissolution. In: REMINGTON'S pharmaceutical sciences. 19. ed. Easton: Mack, 1995.p. 593-604.
2. PIFERI, RESTANI, 2003; Formas farmacêuticas de liberação prolongada.
3. FDA Guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. Rockville: FDA, 1997.p. 1-11.
4. RAYMOND ROWE, ;PAUL J SHESKEY;MARIA E QUINN. Handbook of Pharmaceutical Excipients; 2009.
5. FARMACOPÉIA Brasileira. 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2010.
6. ADAMS, E., COOMANS, D., SMEYERS-VERBEKE, J., MASSART, D. L. Application of linear mixed effects models to the evaluation of dissolution profiles. Int. J. Pharm., Amsterdam, v. 226, p. 107-125, 2001.
7. ARONSON, H. Correction factor for dissolution profile calculations. J. Pharm. Sci., Washington, v. 82, n. 11, p. 1190, 1993.
8. AULTON, M. E. Pharmaceutics: the science of dosage form design. New York: Church Livingstone, 1996. 734 p.
9. PRISTA LVN, ALVES AC, MORGADO RMR, LOBO SS. Tecnologia farmacêutica. 7. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2008. v.1.
10. ALLEN, JR. LV; POPOVICH, NG; ANSEL, HC. Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 8. ed. Porto Alegre: Artmed; 2007.
11. GOODMAN & GILMAN. As bases farmacológicas da terapêutica. [tradução da 10. ed. original, Carla de Melo Vorsatz. et al. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2005.
12. SERRA, C. H. R. cinética de dissolução e bioequivalência. São Paulo, 1998. 206 p.[Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo].
13. ABUZARUR-ALOUL, R.; GJELLAN, K.; SJOLUND,M.; LOFQVIST, M.; GRAFFNER, C. Critical dissolution tests of oral systems based on statistically designed experiments. Screening of critical fluids and in vitro/in vivo modelling of extended release coated spheres. Drug Dev. Ind. Pharm., New York, v. 23, n. 8, p. 749-760, 1997.

14. DRESSMAN, J. B.; AMIDON, G. L.; REPPAS, C., SHAH, V. P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. *Pharm. Res.*, New York, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.
15. BRASIL. Resolução RE n.484, de 19 de março de 2002. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária aprova guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata (FFSLI) Diário Oficial da União, Brasília, 20 mar. 2002. Seção 1, p.116-118.
16. LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. (Ed.). Teoria e prática na indústria farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. cap.14, p.737-781.
17. DOKOUMETZIDIS, A.; PAPAPOULOU, V.; MACHERAS, P. Analysis of dissolution data using modified versions of Noyes-Whitney equation and the Weibull function. *Pharm. Res.*, v. 23, n. 2, p. 256-261, 2006.
18. SHARGEL, L., YU, A. B. C. Applied biopharmaceutical and pharmacokinetics. 3 ed. Connecticut : Prentice -Hall, 1993. 625p.
19. OFOEFULE, S.I.; UDEOGARANYA, P.O.; OKONTA, J.M. Prediction of in vivo bioavailability of six brands film coated tablets using the concept dissolution efficiency (DE). *Boll. Chim. Farm.*, Milano, v. 140, n.3, p. 187-191, 2001.
20. Rowe, R.C.; Sheskey, P.J.; Quinn, M.E. Handbook of pharmaceutical excipients. Published by the Pharmaceutical Press, London, 6 ed, 2009. 888p.
21. MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; AMIDON, G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol. Pharm.*, v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004.
22. REMINGTON, J P. Farmacia Prática, Buenos Aires Pan americana. Prista. Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos 6ª ed., 2000
23. KHAN, K. A; RHODES, C. T. The concept of dissolution efficiency. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v. 27, p. 48-49, 1975.
24. LIMA, A. A. N., LIMA, J. R., SILVA, J. L., ALENCAR, J. R. B., SOARES-SOBRINHO, J. L., LIMA, L. G., ROLIM-NETO, P. J. Aplicação do controle estatístico de processo na indústria farmacêutica. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 27, n. 3, p.177-187, 2006.
25. SKOUG, J. W.; HALSTEAD, G. W.; THIES, D. L.; FREEMAN, J. E.; FAGAM, D. T.; ROHRS, B. R. Roteiro para o desenvolvimento e validação do teste de dissolução em formas farmacêuticas sólidas.
26. SHAH, V.P.; TSONG, Y.; SATHE, P.; LIU, J-P. In vitro dissolution profile comparison – statistics and analysis of the similarity factor f2. *Pharm. Res.*, v. 15, n. 6, p. 889-896, 1998.
27. LIPKA, E., AMIDON, G. L. Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data: optimizing oral drug delivery systems. *J. Controlled Release*, Shannon, v. 62, p. 41-49, 1999.
28. POLLI, J.E.; REKHI, G.S.; SHAH, V.P. Methods to compare dissolution profiles. *Drug Inf. J.*, v.30, p. 1113-20, 1996.
29. O'HARA, T.; DUNNE, A; BUTLER, J.; DENAVE, J. A review of methods used to compare dissolution profile data. *Pharm. Sci. Technol. Today*, Cambridge, v.1, n. 5, 214-223, 1998.
30. POLLI, J.E.; REKHI, G.S.; SHAH, V.P. Methods to compare dissolution profiles. *Drug Inf. J.*, v.30, p. 1113-20, 1996.
31. NIKOLIC, L., DJURIC, Z., JOVANOVIC, M. Influence of in vitro test conditions on release of aspirin from commercial tablets. *J. Pharm. Sci.*, Washington, v. 81, n. 4, p. 386-391, 1992.

32. MOORE, J.W.; FLANNER, H.H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharm. Technol.*, v.20, n.6, p. 64-74, 1996.
33. MARCOLONGO, R. Dissolução de medicamentos:fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. São Paulo, 2003, 114p. [Dissertação de Mestrado] Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
34. SHIN, S.M., CHO, S-J. Kinetics of cetroprofeno release from eudragit-hidroxypropyl cellulose membranes. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v. 22, n. 4, p. 299-305, 1996.
35. SWA Storpirtis S, Marcolongo R, Gasparotto FS, Vila-Nova CM. A equivalência farmacêutica no contexto da intercambialidade entre medicamentos genéricos e de referência: bases técnicas e científicas. 2004.

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE FORMULAÇÃO TÓPICA DE EXTRATO DE UVARANA PARA TRATAMENTO DE FERIDAS

Christiane Caroline de Souza, Giovana Isabel Pinto, Ivo Ilvan Kerppers, Daniel de Paula*

Universidade Estadual do Centro-Oeste, Paraná.

*E-mail: ddepaula@unicentro.br

Submetido em: 08/03/2016

Aceito em: 17/06/2016

Publicado em: 31/12/2016

Resumo

Muitas vezes a cicatrização de feridas ocorre de forma lenta, fazendo-se necessário o tratamento farmacológico na forma tópica, geralmente com medicamentos contendo ativos extraídos de plantas. A Uvarana, *Cordyline dracaenoides* Kunth, apresenta atividade anestésica e anti-edematogênica, mostrando potencial para o tratamento de feridas. Este estudo visou à obtenção de formulação tópica contendo extrato de Uvarana, e realização de testes de estabilidade preliminar. Primeiramente, realizou-se a seleção do solvente extrator, sendo que a solução de Propilenoglicol (PG): água (1:1, v/v) demonstrou melhor propriedade extrativa e maior estabilidade frente aos testes de alteração de pH, temperatura e radiação UV. Posteriormente, prepararam-se géis de Alginato de Sódio, Carbopol, CMC sódica ou Goma Xantana a 1% (m/v) em água destilada, acrescidos de extrato em diversas concentrações. O gel de Carbopol apresentou-se como o melhor veículo para aplicação tópica do extrato de Uvarana, demonstrando comportamento desejável após testes de estabilidade preliminar frente às variações de temperatura e radiação UV, para avaliar a presença de substâncias termo e foto-sensíveis. Esta formulação demonstrou consistência e pH adequados para a aplicação na pele não íntegra, visando uma melhor adesão do paciente ao tratamento.

Palavras-chave: Preparações Farmacêuticas, Fitoterapia, Ferimentos e Lesões.

Development and characterization of topical formulation of uvarana extract for wound treatment

Abstract

Often wound healing occurs slowly, requiring pharmacological treatment in topical form, usually containing active drugs extracted from plants. The Uvarana, *Cordyline dracaenoides* Kunth, presents anesthetic and antiedematogenic activity, showing potential for wound treatment. This study aimed at: (i) obtaining topical formulation containing Uvarana extract, and therefore, (ii) performing preliminary stability tests with the obtained formulation. First, the selection of the extractor solvent was carried out. Propylene glycol (PG): Water solution (1:1, v/v) showed better extraction properties and higher stability against pH, temperature and UV radiation tests. Then, gel formulations of Sodium Alginate, Carbopol, Sodium CMC or Xanthan Gum 1% (w/v) as gelling polymer were prepared in distilled water and incorporated with different extract concentrations. Formulations containing Carbopol 1% (w/v) presented as the best vehicle for topical application of Uvarana extract, demonstrating desirable behavior after preliminary stability tests against temperature variation and UV radiation. This formulation showed consistency and pH value suitable for application to injured skin, helping to improve patient adoption to treatment.

Keywords: Pharmaceutical Preparations, Phytotherapy, Wounds and Injuries

Desarrollo y caracterización de formulación tópica de extracto de uvarana para el tratamiento de heridas

Resumen

La cicatrización de heridas a menudo se produce lentamente, lo que requiere tratamiento farmacológico en forma tópica, generalmente con medicamentos extraídos de plantas. La *Uvarana*, *Cordyline dracaenoides* Kunth, tiene actividad anestésica y anti-edematosa, que muestra potencial para el tratamiento de las heridas. Este estudio tuvo como objetivo obtener formulación tópica que contenga extracto de Uvarana y realizar ensayos preliminares de estabilidad. En primer lugar, se seleccionó el solvente extractor, siendo que la solución de Propilenoglicol (PG): Agua (1:1, v/v) mostró mejor potencial de extracción y mayor estabilidad frente a las pruebas de alteración de pH, temperatura y radiación UV. Posteriormente, se prepararon geles de Alginato sódico, Carbopol, CMC sódica o Goma Xantana 1% (p/v) en agua destilada, aumentados de extracto en diferentes concentraciones. El gel de Carbopol 1% (p/v) se presentó como el mejor vehículo para la aplicación tópica de extracto Uvarana, demostrando comportamiento deseable después de las pruebas de estabilidad preliminar frente a la variación de temperatura y radiación UV, para evaluar la presencia de sustancias termo y fotosensibles.. Esta fórmula demostró consistencia y pH adecuados para la aplicación en la piel no íntegra, ayudando a mejorar la adherencia del paciente al tratamiento.

Palabras clave: Preparaciones Farmacéuticas, Fitoterapia, Heridas y L

INTRODUÇÃO

Ferimentos são danos físicos que resultam em abertura ou ruptura cutânea causando desordem na anatomia e atividade funcional da pele normal⁽¹⁻⁵⁾. Para que ocorra uma cicatrização normal, são necessárias circulação sanguínea, nutrição e imunidade adequadas, além de evitar forças mecânicas prejudiciais, como no caso da pressão exercida pelo peso do próprio corpo nas úlceras de decúbito⁽⁶⁻¹⁰⁾.

Em feridas cuja cicatrização é reduzida, utiliza-se como tratamento medicamentos que auxiliem neste processo. Estes medicamentos apresentam-se na forma de pomadas ou géis. As pomadas apresentam ação emoliente e oclusiva por serem veículos oleosos, geralmente à base de vaselina, ideais para a veiculação de princípios ativos hidrofóbicos⁽¹¹⁾. Por outro lado, os géis são veículos aquosos semissólidos que consistem da dispersão de moléculas pequenas ou grandes em um veículo aquoso, que se torna viscoso pela adição de um agente gelificante. Dentre os agentes gelificantes, podem-se utilizar macromoléculas sintéticas, como carbômeros, derivados de celulose; ou gomas naturais, como a tragacanta^(11,12).

Como fonte de princípios ativos, as plantas possuem elevado potencial para o controle e tratamento de feridas, sendo muitas delas utilizadas de forma popular para esta finalidade. Elas induzem a cicatrização e regeneração de tecidos lesionados por diversos mecanismos, especialmente por promover a desinfecção, debridamento e por proporcionar um meio úmido que estimula o processo de fechamento das feridas^(2,13). Os principais compostos encontrados nas plantas envolvidos nesses processos são os polifenóis, terpenos, saponinas, antocianinas e flavonóides^(14,22).

A *Cordyline dracaenoides* Kunth, conhecida por "Uvarana", é uma árvore encontrada em abundância na região de Campos Gerais, Paraná, Brasil. Ela é utilizada como anti-inflamatório e para o tratamento de reumatismo e doenças associadas⁽¹⁴⁾. Em testes analíticos da *C. dracaenoides*, foi detectada a presença de esteróides, antocianinas, saponinas e pequenas concentrações de taninos em extratos hidroalcoólicos de raízes e folhas. Devido a esses compostos, ela apresenta efeito anestésico, redução locomotora, efeito hipnótico e atividade antiedematogênica para vasos sanguíneos e estômago, sendo muito utilizada na medicina popular^(14,15).

No presente estudo, realizou-se a obtenção e caracterização de uma formulação tópica contendo extrato de Uvarana para o tratamento de feridas visando auxiliar formuladores que atuam na indústria e, em especial, na farmácia de manipulação, na elaboração de formulações fitoterápicas de uso tópico.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção do Solvente Extrator

Para a obtenção do extrato de Uvarana, foi analisada a solubilidade do extrato seco da raiz, em diferentes solventes com potencial de utilização na pele não-integra, sendo eles: água destilada, propilenoglicol (PG), glicerina, solução de PG: água destilada (1:1, v/v) e solução de glicerina: água destilada (1:1, v/v). Para tal, preparou-se os extratos com 500 mg de matéria vegetal em 50 mL de solvente, utilizando-se o método de percolação, agitando-se durante 3 dias e, posteriormente, filtrado. A solubilidade foi avaliada de forma qualitativa⁽¹¹⁾, sendo a propriedade extrativa associada à intensidade de cor apresentada pelo extrato final. Em seguida, foi realizada a medição de pH do extrato e, conseqüentemente, submetido a testes de estabilidade frente à alteração de pH, temperatura e radiação ultravioleta (UV).

Estudo de Formulação de Géis

Foram preparados géis-base com os seguintes agentes doadores de viscosidade: alginato de sódio, carbopol, carboximetilcelulose (CMC) sódica ou goma xantana, na proporção de 1% (m/v) em água destilada. Incorporou-se o extrato de Uvarana nas concentrações de 1, 2, 5 ou 10% (m/v) nos géis-base, preparando, para cada concentração, 25g de gel. Para a escolha do gel-base, analisou-se o aspecto apresentado pela formulação desenvolvida, almejando o gel com melhor consistência e homogeneidade após a adição do extrato. Posteriormente, determinou-se o pH do gel e este foi submetido a testes de estabilidade frente às variações de temperatura e exposição à radiação UV, como descrito anteriormente. Após a escolha da base farmacotécnica, ou seja, gel de carbopol 1% (m/v), foi preparado um gel tendo como veículo próprio, extrato de Uvarana PG: Água (1:1, v/v) objetivando preservar a concentração máxima de extrato que se conseguiu obter na formulação final.

Teste de Estabilidade

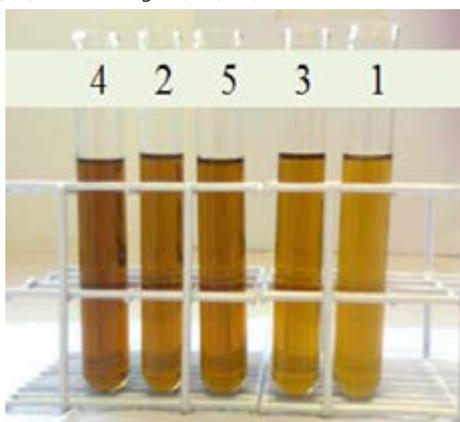
Os extratos e os géis obtidos foram submetidos a testes de estabilidade de pH, temperatura (estabilidade preliminar) e radiação UV⁽¹⁶⁾. No teste de estabilidade de pH, os extratos foram expostos a uma faixa de pH variando de 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 a 8,0, utilizando-se soluções de NaOH 0,1M e HCl 0,1M, por um período de 48 horas. A concentração final de extrato nas soluções foi de 99% (v/v), utilizando-se um volume final de 10 ml para cada amostra. Posteriormente, submetem-se os extratos, em duplicata, a testes de estabilidade frente à temperatura e radiação UV. O teste de estabilidade preliminar baseou-se em expor os extratos a ciclos de congelamento (4 +/- 2°C) e descongelamento (37 +/- 2°C) por um período de 24 horas, em cada temperatura, durante 12 dias (6 ciclos)⁽¹⁶⁾. As amostras para o teste de estabilidade frente à radiação UV, por sua vez, foram expostas à radiação, em aparato específico, com irradiação UVA de 15 Watts (intensidade de radiação de aproximadamente 970 µW.cm²) com emissão máxima de 365 nm e UVB de 15 Watts (intensidade de radiação de aproximadamente 478 µW.cm²) com emissão máxima de 290 nm, simultaneamente, a uma distância de 15 cm a partir das amostras, verificando-as em períodos de 6, 12, 24, 48 e 72 horas de exposição. Decorrido o período dos testes, analisou-se as características organolépticas e físico-químicas das amostras, incluindo: cor, odor, aspecto, turbidez e pH, conforme análises descritas no Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos da ANVISA⁽¹⁷⁾.

RESULTADOS

Seleção do Solvente Extrator

Para a determinação do melhor solvente, associou-se a propriedade extrativa com a intensidade de cor apresentada no extrato final (Figura 1). Todos os extratos apresentaram aspecto límpido e sem a formação de precipitados e, avaliando o pH, notou-se que todos se mantiveram na faixa de pH de 5,0-6,0. Observando a escala, percebeu-se que o extrato em PG:água (1:1, v/v) (tubo 4) apresentou tonalidade mais intensa, seguido dos extratos em PG, glicerina:água (1:1, v/v), glicerina e água (tubos 2, 5, 3 e 1, respectivamente), que apresentaram tonalidades menos intensas.

Figura 1. Extrato de Uvarana obtido por percolação em diferentes solventes. (1) Água; (2) Propilenoglicol (PG); (3) Glicerina; (4) PG:Água (1:1, v/v); (5) Glicerina:Água (1:1, v/v).



Uma característica avaliada nos solventes é a constante dielétrica que está relacionada com a dissolução de grande variedade de substâncias ionizáveis, sendo essencial para a extração de compostos. A redução da constante dielétrica parece ter um efeito significativo na solubilização de compostos, o que explicaria uma melhor extração de princípios ativos, por exemplo, em soluções de água e etanol, uma vez que o etanol permite a extração de substâncias de polaridade intermediária. O PG e a glicerina, por apresentarem constantes dielétricas inferiores a da água (30,2 e 42,5, respectivamente)⁽¹⁸⁾, demonstraram maior intensidade de cor nos extratos, indicando, assim, uma maior extração, ao passo que a água, devido a sua constante dielétrica alta (78,5)⁽¹⁸⁾, demonstrou limitações na extração e a intensidade de cor foi mais fraca.

Outro fator que promoveu menor extração da glicerina em comparação ao PG foi sua viscosidade. A glicerina possui viscosidade de 1.500 mPa.s e o PG de 46 mPa.s a 25°C⁽¹⁹⁾. Quanto mais viscoso o solvente, mais lentamente se estabelece o equilíbrio difusional entre o meio extrator e o interior das células, dificultando o processo de extração^(12,20). A solução de PG: água (1:1, v/v), por sua vez, demonstrou melhor propriedade extrativa tanto pela redução da constante dielétrica como pela diminuição da viscosidade da mistura dos solventes. Logo, optou-se por proceder ao estudo com o extrato de PG: água (1:1, v/v).

Testes de Estabilidade do Extrato de Uvarana

Os testes de estabilidade foram realizados com o solvente que apresentou melhor propriedade extrativa (Tabela 1). O extrato em PG: água (1:1, v/v) apresentou pH aparente no valor de 5,0. Preparando uma escala de pH de 4,0 a 8,0, pode-se observar que houve alteração de cor no extrato no momento que foram adicionadas as soluções de HCl 0,1M e NaOH 0,1M, sendo que, em pH 4,0, a coloração ficou menos intensa e, com o aumento de pH, a cor se intensificou.

Tabela 1. Estabilidade do Extrato de Uvarana em PG:Água (1:1, v/v)

pH das amostras	Intensidade da Cor	Teste de Estabilidade	
		Temperatura	Radiação UV
4,0	ê	Formação de precipitado	Cor alterada pH estável
5,0	Referência	Sem alterações	Cor alterada pH estável
6,0	é	Sem alterações	Cor alterada pH estável
7,0	↑é	↓ pH para 6,0	Cor alterada ↓ pH para 6,0
8,0	↑↑é	↓ pH para 7,0 ↓ intensidadeda cor	Cor alterada ↓ pH para 7,0

Teste de Estabilidade Frente à Variação de Temperatura

Ao término dos ciclos de congelamento e descongelamento, foi possível observar que no extrato em pH 8,0 houve alteração na cor, apresentando tonalidade mais fraca semelhante ao extrato de pH 7,0. No extrato de pH 4,0 houve formação de precipitado, demonstrando, também, uma instabilidade frente à variação de temperatura. Realizando-se a medição de pH de cada tubo de ensaio após o teste de estabilidade, observou-se que nos tubos de pH 7,0 e 8,0 o valor de pH caiu para 6,0 e 7,0, respectivamente (Tabela 1).

Teste de Estabilidade Frente à Radiação UV

Outra série de tubos foi submetida à radiação simultânea de UVA e UVB e, ao fim do procedimento, verificou-se alteração de cor dos extratos em relação ao original. Realizando nova medição de pH dos extratos, observou-se que, assim como para os extratos sujeitos ao teste de estabilidade frente a temperatura, os tubos de pH 7,0 e 8,0 também tiveram redução do valor de pH, apresentando como pH final os valores 6,0 e 7,0, respectivamente (Tabela 1). Percebeu-se que, tanto no teste de estabilidade frente à variação de temperatura como à radiação UV, os extratos de pH 5,0 e 6,0 mantiveram seus valores de pH constantes. Assim, os resultados mostraram que o extrato de Uvarana, apesar de demonstrar uma queda no pH, nos testes de estabilidade frente à temperatura e UV, se manteve estável na faixa de pH utilizada para formas farmacêuticas tópicas.

Estudo de Formulação de Géis

Analisando o produto, percebeu-se que os géis de CMC sódica e Alginato de Sódio não conferiram consistência adequada para aplicação tópica. O gel de Goma Xantana, apesar de apresentar uma melhor consistência quando comparado aos géis anteriores, demonstrou instabilidade apresentando separação de fases ao invés de aspecto uniforme. Dentre os géis estudados, o que apresentou melhor aparência foi o de Carbopol, que formou um gel homogêneo e aparentemente estável.

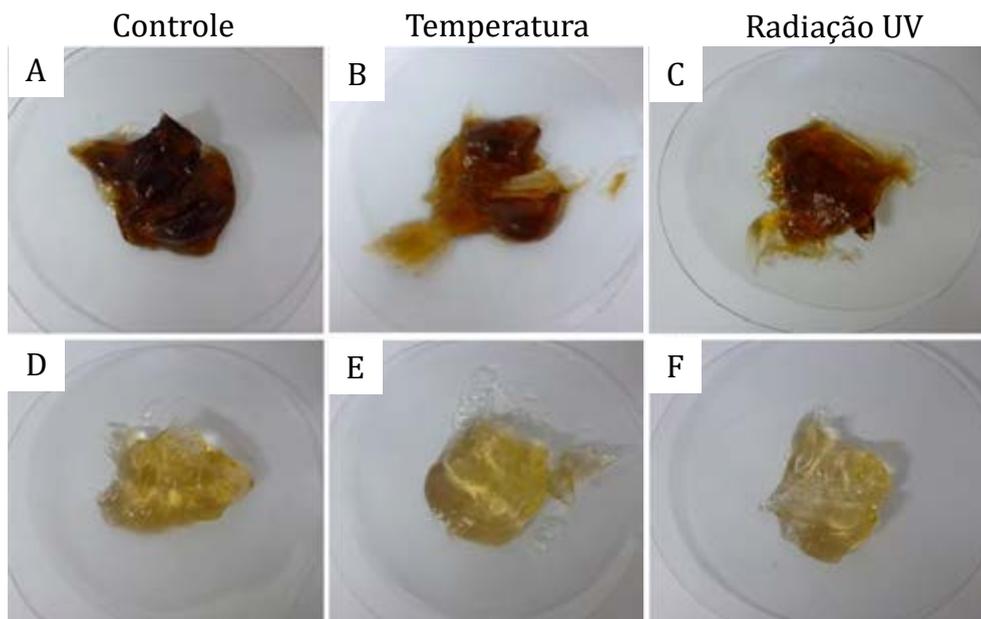
Para o desenvolvimento dos géis de Carbopol, foi necessário proceder à correção de pH do gel base para o valor de 6,0. Com a adição do extrato em diferentes concentrações, foi possível analisar que a formulação incorporou, homoganeamente, o extrato e a consistência de todos era semelhante. Logo, seguiu-se o estudo com o gel contendo a maior concentração de extrato (10%, m/v).

Como o gel de Carbopol conferiu bons resultados, optou-se por preparar um gel a 1% (m/v) de polímero em extrato em pH 6,0, que também gerou uma formulação homogênea. Para determinar a estabilidade dos géis, estes foram submetidos a testes de estabilidade frente à alteração de temperatura e exposição à radiação UV.

Teste de Estabilidade Frente à alteração de Temperatura

De forma semelhante ao teste de estabilidade com os extratos em diferentes valores de pH, os géis de Carbopol a 1% (m/v), adicionados diretamente em extrato, e o de Carbopol a 1% (m/v), em água, acrescido de 10% (m/v) de extrato, foram submetidos a 6 ciclos de congelamento e descongelamento, de 24 horas cada. Ao término do ensaio, observou-se que no gel de Carbopol a 1% (m/v) em extrato, houve leve alteração de cor, apresentando tonalidade mais fraca comparando com o original, ao passo que no gel de Carbopol a 1% em água, acrescido de 10% (m/v) de extrato, houve maior incorporação de ar (Figura 2). Ao fazer nova medição, notou-se que o valor de pH de ambos os géis manteve-se constante frente ao estresse térmico.

Figura 2. Estabilidade do gel de Carbopol contendo extrato de Uvarana frente à variação de temperatura e radiação UVA/UVB. A, B e C: Gel de Carbopol a 1% (m/v) em extrato de Uvarana 1:1 (v/v) PG:Água. D, E e F: Gel de Carbopol a 1% (m/v) em água + 10% (m/v) de Extrato de Uvarana em PG:Água 1:1 (v/v).



Teste de Estabilidade Frente à Radiação UV

Os géis de Carbopol a 1% (m/v) em extrato e, o de Carbopol a 1% (m/v) em água, acrescido de 10% (m/v) de extrato, foram submetidos à ação da radiação UVA e UVB por um período de cinco dias. Decorrido o período do ensaio, verificou-se que ambos apresentaram alteração de cor, assim como no teste de estabilidade frente à variação de temperatura (Figura 2). Apesar das mudanças, o pH manteve-se inalterado em ambas as amostras.

DISCUSSÃO

As formulações tópicas podem ser utilizadas para efeitos locais ou sistêmicos⁽¹¹⁾. Para o tratamento de patologias da pele, o fármaco deve ser capaz de penetrar a pele e ficar retido por um determinado tempo. Para que isto ocorra, deve-se levar em consideração as propriedades físico-químicas do fármaco, as características do veículo e a condição da pele⁽¹²⁾.

A “formulação tópica ideal” para o tratamento de feridas deve remover o excesso de exsudato, manter a umidade do local, proteger contra microrganismos, não agredir a pele, aliviar a dor, promover isolamento térmico e não induzir alergias⁽⁵⁾. Para o desenvolvimento de formulações dermatológicas, o formulador deve avaliar a estabilidade de componentes ativos e de adjuvantes, as propriedades reológicas da formulação, a perda de componentes voláteis, mudanças de fase, pH aparente, distribuição do tamanho de partículas da fase dispersa e a contaminação por partículas. Formulações muito consistentes ou que forneçam a sensação de engorduramento e adesividade podem dificultar a adesão do paciente ao tratamento⁽¹²⁾.

Para formulações destinadas às feridas, assim como para a pele íntegra, são necessários testes de estabilidade que avaliem possíveis alterações em sua composição, como os testes frente às alterações de temperatura e exposição à radiação UV. Pela presença de água junto aos carboidratos ou proteínas, as formulações tópicas são susceptíveis à contaminação microbiana, capaz de degradar a formulação e gerar produtos tóxicos. Logo, devem-se incluir conservantes, sendo estes compatíveis com os demais excipientes; estáveis ao aquecimento e prolongar a armazenagem e as condições de uso do produto; não ser irritantes; não ser tóxicos e; não sensibilizar a pele⁽¹²⁾. Um cuidado que deve ser considerado para uma preparação tópica é o valor de pH. O pH da pele se encontra na faixa de 5,5 e 6,5 e as formulações devem se manter nessa faixa, pois valores de pH baixos podem acarretar em irritação dérmica^(11,12).

Para conferir consistência às formulações tópicas, pode-se utilizar uma gama de agentes gelificantes, sendo os mais comuns, os polímeros derivados da celulose, os derivados dos ácidos acrílico e metacrílico e as gomas naturais^(11,12). O Carbopol é utilizado para géis hidroalcóolicos ou aquosos, e, é o mais eficiente dentre as demais resinas de Carbopol. Sua dispersão resulta em formulações de pH de aproximadamente 3,0, sendo necessária a neutralização para conferir viscosidade ao gel. É incompatível com resorcinol, fenol, polímeros catiônicos, ácidos fortes e altas concentrações de eletrólitos^(11,21). Os géis de Carbopol apresentaram a melhor incorporação do extrato nas diversas concentrações e produziu formulações translúcidas, homogêneas e de maior consistência comparados aos demais polímeros.

Para que uma formulação seja considerada medicamentosa, deve conter uma ou mais substâncias ativas e as plantas devem ser fornecedoras de insumos farmacêuticos⁽²⁰⁾. Diversos produtos vegetais como os taninos, saponinas, flavonoides, naftoquinonas, triterpenos, alcaloides e biomoléculas apresentam efeitos em um ou mais estágios da cicatrização^(13,15). Foi identificada a presença de terpenos, esteróis, saponinas, antocianinas, taninos e polifenóis em extratos de Uvarana^(14,22). Obviamente, o método e o tipo de solvente extrator influenciam a concentração e a classe dos compostos extraídos⁽²⁰⁾. Para tal, análises fitoquímicas são necessárias para garantir o doseamento desses compostos e viabilizar a produção de novos fitomedicamentos, além dos testes *in vivo* de segurança e eficácia.

As alterações de cor dos extratos observadas nos testes de estabilidade podem ser explicadas pela presença de antocianinas na Uvarana⁽²²⁾. Metabólitos dos flavonoides, as antocianinas são encontradas em diferentes formas dependendo do pH da solução: cátion flavinium, base anidra quinoidal, pseudo-base carbitol e chalcona. Em pH abaixo de 2,0 as antocianinas apresentam-se basicamente na forma catiônica; com o aumento do pH ocorre a desprotonação para formar a base quinoidal. Em soluções ácidas, as antocianinas apresentam coloração avermelhada, com o aumento do pH a intensidade da cor diminui. Em solução alcalina, a cor azul é obtida, porém é instável^(23,24).

As antocianinas são mais estáveis em pH levemente ácido⁽²³⁾, corroborando os dados encontrados para os extratos em pH 6,0. A degradação pode ocorrer por vários mecanismos, iniciando com a perda da cor, seguida do surgimento de coloração amarelada e formação de produtos insolúveis⁽²⁴⁾, conforme visto para os extratos em pH 4,0 submetidos ao estresse térmico. Com o aumento da temperatura, a degradação também tende a aumentar, e esta é ainda mais acentuada quando se aumenta o pH do meio⁽²³⁾, dado observado nos resultados obtidos para extratos em pH 7,0 e 8,0. As antocianinas também são susceptíveis à foto-degradação, resultando em perda de coloração⁽²⁴⁾. A intensidade da coloração também pode ser afetada pela complexação intermolecular entre antocianinas, ou com outros compostos, como ácidos orgânicos, levando a um deslocamento no comprimento máximo de absorção^(23,24). Este fenômeno poderia explicar a diminuição da coloração do gel contendo extrato submetido ao estresse térmico devido à interação com o Carbopol, polímero do ácido acrílico.

Apesar de serem utilizadas frequentemente na medicina popular, poucas plantas foram estudadas e tiveram sua atividade biológica comprovada no tratamento de feridas. Dentre elas, pode-se citar a *Aloe vera*, que apresenta ação cicatrizante, antibacteriana, antifúngica e antivirótica; a *Arnica montana*, utilizada como anti-inflamatório; a *Matricaria recutita*, com atividade antibacteriana, anti-inflamatória e estimulante do metabolismo da pele; e a *Hamamelis virginiana*, de ação adstringente, anti-inflamatória e hemostática^(20,25,26). Em estudo da atividade biológica da Uvarana, em diferentes solventes extratores, incluindo água e etanol, foi comprovado que o extrato da raiz apresenta atividade antibacteriana contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, pela presença de compostos polifenólicos⁽¹⁴⁾; antiedematosa em feridas⁽²⁷⁾; e anti-inflamatória, provavelmente pela presença de saponinas esteroidais^(22,28).

CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos neste estudo, observou-se a possibilidade de incorporar o extrato de uvarana em uma formulação tópica em gel, uma vez que esta se demonstrou estável. A formulação demonstrou consistência e pH adequados para a aplicação na pele não íntegra, e não teve adição de excipientes irritantes, visando uma melhor adesão do paciente ao tratamento. As próximas etapas deste estudo devem abranger o aprimoramento da formulação por meio do desenvolvimento de um sistema conservante e realização de *challenge test*, e a aplicação em feridas com testes realizados em seres humanos.

REFERÊNCIAS

1. Alam G, Singh MP, Singh A. Wound healing potential of some medicinal plants. *Int J Pharm Sci Rev Res*. 2011;9(1):136-145.
2. Nagori BP, Solanki R. Role of Medical Plants in Wound Healing. *Res J Med Plant*. 2011;5(4):392-405.
3. Sinno H, Prakash S. Complements and the Wound Healing Cascade: An Updated Review. *Plast Surg Int*. 2013;2013:146764.
4. Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Rep Reg*. 2009;17(2):153-162.

5. Fonder MA, Lazarus GS, Cowan Da, Aronson-Cook B, Kohli AR, Mamelak AJ. Treating the chronic wound: A practica approach to the care of non healing wounds andwound care dressings. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(2):185-206.
6. Rahal SC, Rocha NS, Blessa ÉP, Iwabe S, Crocci AJ. Pomada orgânica natural ou solução salina isotônica no tratamento de feridas limpas induzidas em ratos. *Ciênc Rural*. 2001;31(6):1007-1011.
7. Vitorino Filho RNL, Batista MCS, Verçosa BLA, Silva SMMS, Machado, ASF, Bonfim JM, Brandão AAC, Sousa JBB. Avaliação do uso de pomada à base de sementes de jaqueira (*Artocarpus heterophyllus* Lam) na terapêutica de feridas. *Ver Ciênc Farm Básica Apl*. 2007;28(3):279-286.
8. Morimoto N, Yoshimura K, Niimi M, Ito T, Tada H, Teramukai S, Murayama T, Toyooka C, Takemoto S, Kawai K, Yokode M, Shimizu A, Suzuki S. An exploratory clinical trial for combination wound therapy with a novel medical matrix and fibroblast growth factor in patients with chronic skin ulcers: a study protocol. *Am J Transl Res*. 2012;4(1):52-59.
9. Bielefeld KA, Amini-Nik S, Alman BA. Cutaneous wound healing: recruiting developmental path ways for regeneration. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(12):2059-2081.
10. Wolfram D, Tzankov A, Pülzl P, Piza-Katzer H. Hypertrophic Scarsand Keloids – A Review of Their Pathophysiology, Risk Factors, and Therapeutic Management. *Dermatol Surg*, 2009;35(2):171-181.
11. Ansel HC, Allen Jr LV, Popovich NG. Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. 8ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2007.
12. Aulton ME. Delineamento de formas farmacêuticas. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed. 2005.
13. Martins MD, Marques MM, Bussadori SK, Martins MAT, Pavesi VCS, Ferrari RAM, Fernandes KPS. Comparative Analysis between *Chamomilla recutita* and Corticosteroids on Wound Healing. An *In Vitro* and *In Vivo* Study. *Phytother Res*. 2009;23(2): 274-278.
14. Beltrame FL, Kanunfre CC, Rainho B, Kiatkoski E, Mioduski F, Kravicz MH, Esmerino LA. Evaluation of biochemical and microbiological effects of *Cordyline dracaenoides* Kunth (Uvarana) barks. *Afr J Pharm Pharmacol*. 2011;5(20):2255-2264.
15. Mazza MCM, Rodigheri HR, Nakashima T, Ziller SR, Mazza CAS, Conto AJ, Soares AO, Baggio AJ. Potencial de aproveitamento medicinal de espécies do sub-bosque dos bractantigas da região de Curitiba, PR. Colombo: Embrapa Florestas [Internet]. 27 p, 2000 [cited 2015 nov 30]. Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/289947/1/doc43.pdf>
16. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia de Estabilidade de Produtos Cosméticos. Volume 1. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 2004.
17. Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Guia de Controle de Qualidade de Produtos Cosméticos: Uma Abordagem sobre os Ensaio Físicos e Químicos. 2ª ed. Brasília (Brasil): Ministério da Saúde; 2008.
18. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipientes. 6th edition. London: Pharmaceutical Press. 2009.
19. LIDE DR, editor. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 89a. ed. Boca Raton: CRC Press; 2007. 2736p.
20. Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC. 2004.
21. Ferreira AO. Guia Prático da Farmácia Magistral – Volume 1. 3ª ed. São Paulo: Pharmabooks. 2008.

22. Calixto JB, De Lima TCM, Morato GS, Nicolau M, Takahashi RN, Valle RMR, Schmidt CC, Yunes RA. Chemical and pharmacological analysis of the crude aqueous/alcoholic extract from *Cordyline dracaenoides*. *Phytotherapy Res.* 1990;4(5):167-171.
23. Lopes TJ, Xavier MF, Quadri MGN, Quadri MB. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. *R. Bras. Agrociência.* 2007;13(3):291-297.
24. Castaneda-Ovando, A. Pacheco-Hernandez ML, Paez-Hernandez ME, Rodriguez JA, Galan-Vidal CA. Chemical studies of anthocyanins: a review. *Food Chem.* 2009;113:859-871.
25. Hasse JA. Atividade antiinflamatória tópica do extrato bruto da *Piper mollicomum* em modelos de inflamação cutânea em camundongos [dissertação]. [Blumenau]: Universidade Regional de Blumenau; 2005.
26. Silveira PF, Bandeira MAM, Arrais PSD. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *ver Bras Farmacogn.* 2008;18(4):618-626.
27. Rolão MPP, Eltchechem CL, Ribeiro LG, Kerppers II. Estudo do efeito antiedematoso do extrato aquoso da *Cordyline dracaenoides* Kunth. *Rev. Bras. Iniciação Cient.* 2015; 2(1):1-14.
28. Kerppers, II. Efeitos dos Leds 627nm e 945nm associados ao extrato de Uvarana (*Cordyline dracaenoides* Kunth) na recuperação de feridas cutâneas em ratos [thesis]. São José dos Campos: Instituto de Engenharia Biomédica/Universidade Camilo Castelo Branco; 2014. 69p.

PROBLEMAS FARMACOTERAPÊUTICOS EM IDOSOS DE UMA UNIDADE DE ATENÇÃO PRIMÁRIA À SAÚDE DE MINAS GERAIS

Rinaldo Eduardo Machado de Oliveira^{1*},

Mariana Martins Gonzaga do Nascimento²,

Flávia Jéssica Reis³, Elber Ruan Oliveira Dias⁴, Mariana Linhares Pereira³

¹Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo,

²Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais,

³Universidade Federal de São João del-Rei,

⁴Drogaria Indiana, Minas Gerais

*E-mail: rinaldo_eduardo@hotmail.com

Submetido em: 10/03/2016

Aceito em: 03/06/2016

Publicado em: 31/12/2016

Resumo

Os idosos possuem elevada vulnerabilidade a problemas decorrentes do uso de medicamentos. Isso ocorre devido às alterações farmacocinéticas e farmacodinâmicas do próprio envelhecimento, às múltiplas e complexas doenças e uso concomitante de vários medicamentos. Neste sentido, o presente estudo objetivou avaliar potenciais problemas farmacoterapêuticos de idosos atendidos em uma Unidade de Atenção Primária à Saúde de Minas Gerais. Trata-se de um estudo transversal descritivo realizado com 100 idosos. A amostra foi calculada com base no total de idosos cadastrados na Unidade de Saúde. Os dados foram coletados por meio de entrevistas, a partir das quais se obtiveram dados sociodemográficos, relacionados ao uso de medicamentos, condições de saúde, dentre outros. Foram identificados 117 problemas farmacoterapêuticos potenciais, sendo duas duplicidades, sete sobredoses, 72 potenciais interações medicamento-medicamento e prevalência de 8,5% de medicamentos potencialmente inapropriados para idosos, segundo o Critério de Beers. Estes resultados são preocupantes e evidenciam a necessidade de implantação de serviços de acompanhamento da terapia medicamentosa em Unidades de Atenção Primária à Saúde, buscando-se melhorar a qualidade de vida dos idosos.

Palavras-chave: Saúde do Idoso, Idoso, Interações de Medicamentos, Farmacoepidemiologia, Prescrição Inadequada.

Drug therapy problems in elderly of a primary healthcare unit of Minas Gerais

Abstract

The elderly are highly vulnerable to problems stemming from drug use. This is due to pharmacokinetic and pharmacodynamic changes of aging itself, the multiple and complex diseases and concomitant use of several drugs. In this sense, the present study aimed at evaluating potential pharmacotherapeutic problems of the elderly in a Unit of Primary Healthcare of Minas Gerais. This is a descriptive cross-sectional study of 100 elderly. The convenience sample was calculated based on the total of elderly enrolled in the Health Unit. Data were collected through interviews, from which we obtained sociodemographic data related to the use of medications, health conditions, among others. 117 potential drug therapy problems and 2 duplicates, 7 overdoses, 72 potential drug-drug interactions and 8.5% inappropriate drugs for the elderly, according to the Beers Criteria, were identified. These results are worrying and highlight the need to implement monitoring of drug therapy services in Primary Healthcare Units seeking to improve the quality of life for seniors.

Keywords: Aging Health, Aged, Drug Interactions, Pharmacoepidemiology, Inappropriate prescription.

Problemas farmacoterapêuticos em idosos de uma unidade de atenção primária de saúde de Minas Gerais

Resumen

Los ancianos son altamente vulnerables a los problemas derivados del consumo de medicamentos. Eso se debe a las alteraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas características del envejecimiento, a los múltiples y complejas enfermedades y al uso concomitante de varios medicamentos. En este sentido, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar los posibles problemas farmacoterapêuticos de los ancianos atendidos en una Unidad de Atención Primaria de Salud de Minas Gerais. Se trata de un estudio transversal descriptivo llevado a cabo con 100 ancianos. La muestra se calculó sobre la base del total de ancianos inscritos en la Unidad de Salud. Los datos fueron recolectados a través de entrevistas, a partir de las que se obtuvieron datos sociodemográficos relacionados con el uso de medicamentos, condiciones de salud, entre otros. Se identificaron 117 posibles problemas farmacoterapêuticos y dos duplicados, 7 sobredosis, 72 posibles interacciones farmacológicas y 8,5% posibles medicamentos inadecuados para los adultos mayores, de acuerdo con los Criterios de Beers. Esos resultados son preocupantes y ponen de relieve la necesidad de implementar servicios de vigilancia de los servicios de terapia de medicamentosa en las Unidades de Atención Primaria para la Salud, buscando mejorar la calidad de vida de los ancianos.

Palabras-clave: Salud del Anciano, Anciano, Interacciones de Medicamentos, Farmacoepidemiología, Prescripción Inadecuada.

INTRODUÇÃO

As alterações na estrutura etária da população e no perfil de morbimortalidade são notórias em todo o mundo⁽¹⁾. No Brasil, as mudanças demográficas mais significativas se iniciaram a partir de 1960 em decorrência da redução significativa das taxas de fecundidade e mortalidade nacionais, bem como o aumento da expectativa de vida ao nascer, resultando em um processo contínuo de aumento na representatividade de indivíduos idosos na população brasileira⁽²⁾. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) mostram que a população idosa brasileira crescerá de tal forma que, em 2020, representarão cerca de 15 milhões de indivíduos⁽³⁾. No município de Divinópolis, Minas Gerais (MG), a população idosa representava 7,4% da população total no ano 2000 e estimou-se 11,4%, em 2015.

O aumento da população idosa implica em uma maior prevalência de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), destacando-se a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), Diabetes Mellitus (DM), dislipidemias e neoplasias⁽⁵⁾. Em geral, estas doenças demandam cuidados contínuos e os medicamentos são as principais tecnologias terapêuticas utilizadas na prevenção, tratamento e controle⁽⁶⁾. As múltiplas doenças, frequentemente diagnosticadas em idosos, predispõem a um maior consumo de medicamentos. Este é um dos fatores que contribui para que essa população se torne mais suscetível à ocorrência de Problemas Farmacoterapêuticos Potenciais (PFTP)⁽⁷⁾.

Entre idosos residentes na comunidade, são identificadas prescrições com indicações inapropriadas, subdose, sobredose, potenciais interações medicamentosas, duplicidade terapêutica, associações irracionais, e, até mesmo, medicamentos sem valor terapêutico^(8,9). Soma-se a isso o fato de que esses indivíduos costumam ser mais vulneráveis aos eventos adversos relacionados aos medicamentos devido às alterações fisiopatológicas decorrentes do processo de envelhecimento, que tendem a alterar a farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos^(7,10).

Considerando o atual perfil de envelhecimento e uso de medicamentos por idosos, faz-se necessária a identificação de Problemas Farmacoterapêuticos Potenciais no cenário brasileiro. Neste contexto, o presente estudo buscou avaliar os PFTP entre idosos atendidos em uma Unidade de Atenção Primária à Saúde (UAPS) de Divinópolis, MG.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal descritivo realizado com 100 idosos de uma UAPS de Divinópolis, MG. A amostra foi calculada com base no total de idosos cadastrados na UAPS, considerando um nível de significância de 95,0%, erro amostral de 9,6%, para prevalência de 1,0 a 50,0. Os dados foram coletados por meio de entrevista no momento em que os usuários aguardavam na fila para dispensação dos medicamentos na Farmácia da UAPS.

Os idosos que completavam os critérios de inclusão eram convidados a participar da pesquisa. No caso de aceitarem e concordarem em participar, o Termo de Consentimento Livre e esclarecido (TCLE) era assinado.

O instrumento de coleta constituiu em um questionário semiestruturado com variáveis sociodemográficas, econômicas, condições de saúde, acesso e uso de medicamentos. Foram consideradas informações autorreferidas, constantes na prescrição médica, bem como as embalagens de medicamentos usados, sendo solicitadas antes do início da entrevista. Os questionários aplicados foram revistos, codificados e inseridos em banco de dados específico, em programa Excel®.

Os medicamentos foram classificados de acordo com o *Anatomical-Therapeutic-Chemical Classification System* (ATC)⁽¹¹⁾ e as doenças conforme o Sistema de Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde – CID 10⁽¹²⁾. Na identificação dos medicamentos potencialmente inapropriados para idosos utilizou-se o Critério de Beers atualizado⁽¹³⁾.

Para a classificação dos PFTP nas prescrições avaliadas, foram observados os seguintes critérios de detecção: (1) duplicidade terapêutica, (2) subdose, (3) sobredose, (4) prescrição de medicamentos potencialmente inapropriados para idosos segundo o Critério de Beers, (5) potenciais interações medicamentosas. Vale ressaltar que as interações medicamentosas que foram classificadas como PFTP são apenas as de Grau de Significância 1, 2 e 3, visto que elas são mais significativas e prováveis de ocorrerem^(14,15).

Utilizou-se o método *Pharmacists Work-up of Drug Therapy* (PWDT), para a classificação dos PFTP: indicação, efetividade, segurança e adesão. Sendo esses, respectivamente, subdivididos em Medicamento Desnecessário/Necessita Farmacoterapia Adicional, Necessita Medicamento Diferente/Dose muito baixa, Reação Adversa ao Medicamento/Dose muito alta e Não segue as instruções de uso⁽¹⁶⁾.

Na descrição dos dados foram utilizadas medidas de tendência central e de dispersão para variáveis quantitativas e percentagens para variáveis qualitativas. Para a comparação de variáveis de interesse foram utilizados testes estatísticos com a utilização do aplicativo *Stata* 10.0. O nível de significância estatística foi fixado em 5,0%.

O presente estudo foi conduzido considerando a Resolução CNS nº 466/12 e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de São João Del-Rei, com Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) número 10941012.6.0000.5545.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização sociodemográfica

Na amostra estudada, identificou-se maioria feminina (69%). Isso pode ser explicado pela maior expectativa de vida das mulheres relacionada, principalmente, a fatores hormonais, a maior procura pelos serviços de saúde e uso de medicamentos⁽¹⁷⁾. Em relação à idade, evidenciou-se que a maioria (35%) estava na faixa etária entre 60 a 64 anos. A população é caracterizada pela baixa escolaridade e 20% dos idosos declararam ser analfabetos, sendo incapazes de assinar seu próprio nome. Esta população também é caracterizada pela baixa renda, com 73% dos idosos com rendimento mensal de até um salário mínimo.

A caracterização da população estudada, estratificada por gênero, considerando faixa etária, escolaridade e renda, está descrita na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização sociodemográfica e econômica dos idosos de uma Unidade de Atenção Primária à Saúde, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, 2013.

Variáveis Sociodemográficas	Número de entrevistados (n=100)	Feminino (n=69)	Masculino (n=31)
Idade (anos)			
60-64	35	26	9
65-69	29	20	9
70-74	21	12	9
75-79	6	4	2
80-84	6	4	2
85-89	2	2	0
90-94	1	1	0
Escolaridade			
Analfabeto	20	17	3
Ensino Fundamental Incompleto	62	37	25
Ensino Fundamental Completo	18	15	3
Ensino Médio	0	0	0
Ensino Superior	0	0	0
Renda			
< salário mínimo*	9	4	5
1 salário	64	45	19
2 – 3 salários mínimos	22	16	6
≥4 salários mínimos	5	4	1

*R\$678,00 (seiscentos e setenta e oito reais)

Descrição dos medicamentos de acordo com o *Anatomical Therapeutic Chemical Classification System (ATC)*

Verificou-se que os 100 idosos utilizavam um total de 425 medicamentos. Estes foram analisados e agrupados de acordo com o princípio ativo e classe farmacológica. Encontrou-se 65 princípios ativos diferentes e 10 diferentes classes farmacológicas, de acordo com o primeiro nível de classificação ATC.

Segundo o primeiro nível de classificação ATC (Tabela 2), 56% dos medicamentos pertencem ao “Sistema Cardiovascular”, seguidos pelo “Trato alimentar e metabólico” (17,6%) e “Sangue e órgãos formadores de sangue” (9,9%). Em relação às classes terapêuticas mais usadas pelos idosos, os resultados corroboram com outros relatos da literatura^(18,19).

Tabela 2. Principais grupos anatômicos prescritos de acordo com o primeiro nível de classificação ATC *. Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, 2013.

Grupos anatômicos	Número de medicamentos	
	n	%
C: Sistema cardiovascular	238	56,0
A: Trato alimentar e metabólico	75	17,0
B: Sangue e órgãos formadores de sangue	42	9,9
C: Sistema Nervoso	30	7,0
M: Sistema musculoesquelético	13	3,0
H: Preparações hormonais sistêmicas	12	2,8
P: Sistema respiratório	9	2,1
J: Anti-infecciosos para uso sistêmico	4	1,2
P: Anti-parasitários, inseticidas e repelentes	1	0,2
G: Sistema geniturinário e hormônios sexuais	1	0,2
Total	425	100,0

*ATC: *Anatomical-Therapeutic-Chemical Classification System*

Adequação dos medicamentos prescritos

Dentre os fármacos usados pelos idosos, foram identificados sete (10,7%) considerados potencialmente inapropriados para este grupo etário. Foram eles: alprazolam, amitriptilina, prometazina, fluoxetina, clonidina, nifedipino e diazepam. A Tabela 3 mostra a frequência de uso dos mesmos.

Tabela 3. Frequência de uso de medicamentos potencialmente inapropriados de acordo com os Critérios de Beers. Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, 2013.

Medicamento	(n)	%
Nifedipino	21	58,3
Amitriptilina	7	19,4
Clonidina	3	8,3
Diazepam	2	5,6
Alprazolam	1	2,8
Fluoxetina	1	2,8
Parometazina	1	2,8
Total	36	100

O uso de nifedipino de liberação imediata por idosos envolve o risco de constipação intestinal, hipotensão pronunciada e isquemia cardíaca⁽¹³⁾. Um estudo realizado no município de São Paulo, revelou que o nifedipino foi o medicamento potencialmente inapropriado mais utilizado entre idosos, sendo as possíveis consequências do uso consideradas de alta gravidade⁽²⁰⁾.

A amitriptilina, diazepam e alprazolam produzem efeitos sedativos pronunciados em idosos, predispondo à hipotensão ortostática, déficit cognitivo, delírio, quedas e fraturas^(13, 21).

O uso de clonidina envolve alto risco de bradicardia, hipotensão ortostática, depressão e sedação⁽¹³⁾. Já a fluoxetina apresenta meia-vida longa e promove um maior estímulo do sistema nervoso central, agitação e distúrbios do sono^(7,20,21).

Neste estudo, a prevalência de uso de medicamentos potencialmente inapropriados entre os idosos foi de 8,5%. Um estudo realizado com idosos do Rio de Janeiro, apresentou prevalência de 10,4%⁽¹⁸⁾.

Duplicidades terapêuticas

As duplicidades terapêuticas foram detectadas entre os medicamentos usados por dois idosos: 1) atorvastatina e sinvastatina, 2) nitrazepam e clonazepam.

O uso de dois fármacos da classe das estatinas, além de desnecessário, aumenta o risco da ocorrência de eventos adversos relacionadas à dose. O uso concomitante leva à competição pela via de metabolização resultando em concentrações plasmáticas aumentadas de ambos os fármacos, além de efeito farmacológico e adverso mais pronunciado. A mialgia é capaz de afetar até 10% das pessoas que tomam estatinas, caracterizada como dor ou fraqueza muscular. A rabdomiólise, apesar de incomum, consiste na reação adversa mais grave observada na terapia com estatinas⁽²²⁾.

A segunda duplicidade está relacionada ao uso de nitrazepam e clonazepam. Estes fármacos pertencem à classe dos benzodiazepínicos de ação prolongada e sua associação pode acarretar em potencialização dos efeitos adversos como o efeito depressor do sistema nervoso central, incluindo sonolência, sedação excessiva, perda da coordenação motora, confusão e instauração de déficit cognitivo⁽²³⁾. Além dos aspectos de segurança citados, cabe ressaltar que o nitrazepam não é um medicamento padronizado na Relação Municipal de Medicamentos Essenciais (REMUME) de Divinópolis. Logo, o usuário teria que adquiri-lo na rede privada e a população estudada é caracterizada por baixa renda. Assim, poderiam existir problemas relacionados ao acesso.

Subdose e Sobredose

Verificou-se sobredose nos medicamentos de cinco idosos. Nas prescrições de quatro desses idosos, foram identificados medicamentos usados em dose superior ao preconizado: hidroclorotiazida (100 mg), losartana (150 mg), sinvastatina (120 mg) e alendazol (1,2 g). Na prescrição de um único idoso observou-se sobredose de três medicamentos simultaneamente: losartana (150 mg), hidroclorotiazida (150 mg) e sinvastatina (120 mg).

Para a losartana, cuja dose diária não deve ultrapassar 100 mg, o uso em dose superior à preconizada tem como principal efeito a hipotensão ortostática. Além disso, deve-se monitorar o desenvolvimento de angiodema, insuficiências hepática e renal e estenose da artéria renal^(26,27).

Em indivíduos idosos, altas doses de hidroclorotiazida podem desencadear arritmias cardíacas, em consequência do aumento do risco de hipocalcemia⁽²⁶⁾. Estudos mostram que não há redução significativa da pressão arterial com a doses superiores a 25 mg; ou seja, doses mais baixas apresentam a mesma eficácia e são mais seguras. Quando o uso diário de 25 mg não é suficiente para o controle dos níveis de pressão arterial, deve-se adicionar uma segunda classe de anti-hipertensivo à farmacoterapia^(26,27). Uso de doses superiores é justificado apenas em casos de Insuficiência Cardíaca Congestiva descompensada, o que não se aplica aos participantes desta pesquisa⁽²⁷⁾.

A sobredose de sinvastatina pode levar a miopatia. Em 2011, a *Food and Drug Administration* (FDA), órgão de regulação sanitária norte-americano, divulgou um alerta de segurança recomendando que se restrinja a dose máxima de sinvastatina (40 mg/dia). Neste comunicado, o FDA alertou que não se deve prescrever sinvastatina em doses elevadas devido ao risco aumentado de lesão muscular. Na mesma nota, o FDA também destacou o risco de miopatia e rabdomiólise em pacientes do sexo feminino, idosos, e no primeiro ano de tratamento⁽²⁸⁾.

Também foi identificado um idoso que utilizava 1,2 g de albendazol, sendo que o máximo preconizado para o consumo diário é de 400 mg⁽²⁹⁾. O albendazol é o medicamento de primeira escolha no tratamento das infecções simples ou mistas causadas por parasitas intestinais e a dose usual para helmintos é de 400mg em administração única. Nos casos de infecção confirmada ou suspeita por *Strongyloides stercoralis* e *Taenia* spp., o albendazol 400 mg, como dose única diária deve ser administrado por três dias consecutivos⁽²⁹⁾. Doses elevadas deste agente podem, no entanto, ocasionar leucopenia⁽⁴⁵⁾.

Não foi verificada subdose nos esquemas posológicos citados pelos entrevistados. Subdoses podem gerar inefetividade do tratamento proposto.

Sabe-se que as necessidades farmacoterapêuticas devem ser as mais individualizadas possíveis, com a possibilidade da aplicação de doses abaixo ou superiores ao usual nos casos em que é realizado o monitoramento constante e adequado da resposta terapêutica de cada indivíduo.

Potenciais interações medicamentosas

Foram identificadas 72 potenciais interações medicamento-medimento na farmacoterapia dos entrevistados (Tabela 4). A maioria das interações (38,9%) apresentou grau de significância igual a "2", significando gravidade moderada e bom grau de evidência.

Tabela 4. Frequência de potenciais interações medicamentosas, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, 2013¹⁴.

Grau de Significância e Medicamentos	Frequência Relativa no total de interações por grau de significância	
	n	%
Grau de significância 1		
Clopidogrel +AAS	2	25,0
Captopril+Espironolactona	1	12,5
Clopidogrel + Omeprazol	1	12,5
Clonidina + Propranolol	3	37,5
AAS + Ibuprofeno	1	12,5
Grau de Significância 2		
AAS + Insulina	7	25,0
AAS + Propranolol	5	17,8
AAS + Carvedilol	5	17,8
AAS + Captopril	8	28,6
Fenobarbital + Nifedipino	1	3,6
Amitriptilina + Fluoxetina	1	3,6
AAS + Atenolol	1	3,6

continua...

Grau de Significância e Medicamentos	Frequência Relativa no total de interações por grau de significância	
	n	%
Grau de Significância 3		
AAS + Espironolactona	3	27,3
Furosemida + Enalapril	1	9,1
Omeprazol + AAS	6	54,5
Omeprazol + Clonazepan	1	9,1
Grau de Significância 4		
Carvedilol + Fluoxetina	1	8,3
Nifedipino + Propranolol	3	25,0
Levotiroxina + Propranolol	6	50,0
Atenolol + Nifedipino	1	8,3
Levotiroxina+ Sinvastatina	1	8,3
Grau de Significância 5		
AAS + Furosemida	8	61,5
Propranolol + Clonazepam	1	7,7
Nifedipino + Omeprazol	3	23,1
Atenolol + Insulina NPH	1	7,7

Os fármacos que mais estiveram envolvidos em potenciais interações medicamentosas foram o ácido acetilsalicílico, captopril e furosemida. As potenciais interações mais frequentes foram entre ácido acetilsalicílico e captopril e ácido acetilsalicílico e insulina NPH.

O ácido acetilsalicílico foi o medicamento mais utilizado e o mais envolvido em interações potenciais, apresentando-se em nove interações diferentes com graus de significância variando de 1 a 5.

O método PWDT é uma ferramenta que permite aos profissionais de saúde identificar indivíduos com riscos farmacoterapêuticos e evitar morbimortalidade relacionada ao uso de medicamentos. Neste estudo, verificou-se predominância de PFTP relacionados à segurança, conforme descrito na Tabela 5. Estudos com este foco ainda são escassos na literatura. Contudo, estudos de utilização de medicamentos realizados em Instituições de Longa Permanência para Idosos e analisados a partir do Critério de Beers 2003, corroboram com os resultados aqui apresentados^(31,32).

Tabela 5. Distribuição de Problemas Farmacoterapêuticos Potenciais segundo o método PWDT*. Divinópolis, Minas Gerais, Brasil, 2013.

Problemas Farmacoterapêuticos Potenciais (PFTP)	Frequência Absoluta (n)
PFTP Indicação	2
PFTP 1 – Medicamento desnecessário	2
Terapia dupla	2
PFTP Segurança	115
PFTP 5 – Reação Adversa a Medicamentos	108

continua...

Problemas Farmacoterapêuticos Potenciais (PFTP)	Frequência Absoluta (n)
Interação Medicamentosa	72
Medicamentos Inseguro para o Paciente (Beers ¹³)	36
PFTP 6 – Dose Muito Alta	7
Dose muito alta	7

PWDT: *Pharmacist's Work-up of Drug Therapy*

CONCLUSÃO

A partir da análise dos medicamentos usados pelos idosos incluídos neste estudo, foram identificadas frequências relevantes de PFTP, dentre eles, potenciais interações medicamentosas, medicamentos potencialmente inapropriados e sobredoses. Tais resultados são preocupantes e requerem intervenções futuras.

No presente estudo, não foi realizado monitoramento clínico dos possíveis PFTP, mas é a primeira etapa para o planejamento de ações que objetivam otimizar a farmacoterapia. As demandas de saúde da população idosa tornam-se cada vez mais complexas, exigindo profissionais de saúde que possam fazer um diagnóstico situacional da realidade local e desenvolver ações inovadoras.

Neste contexto, sugere-se a implantação de serviços de acompanhamento farmacoterapêutico. Acredita-se que o trabalho colaborativo do farmacêutico com os demais profissionais da Atenção Primária à Saúde permita detectar e prevenir PFTP que podem causar impactos negativos à saúde dos idosos, evitando complicações, qualificando o cuidado e promovendo o uso racional de medicamentos.

REFERÊNCIAS

1. Chaimowicz F. Saúde do Idoso. 2ª edição. Belo Horizonte: NESCON UFMG; 2013.
2. Lebrão ML. O envelhecimento no Brasil: Aspectos da transição demográfica e epidemiológica. *Saúde Coletiva*. 2007; 4(17):135-140.
3. Beltrão KI, Camarano AA, Kanso S. Dinâmica populacional brasileira na virada do século XX. 2004; IPEA, Texto para discussão 1034.
4. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [Internet]. Brasília: Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão (BR) [cited 2016 feb 1]. Síntese de indicadores sociais – uma análise das condições de vida da população brasileira. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?codmun=312230>
5. Schmidt MI, Ducan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM et al. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: carga e desafios atuais. *The Lancete*. 2011;61-74.
6. Alves LC, Leite IC, Machado CJ. Factors associated with functional disability of elderly in Brazil: a multilevel analysis. *Rev. Saúde Pública*. 2010; 44 (3): 468-478.
7. Silva R, Schmidt OF, Silva S. Polifarmácia em geriatria. *Revista da AMRIGS*. 2012; 56 (2): 164-174.

8. Oliveira MG, Amorim WW, Rodrigues VA, Passos LC. Access of Brazilian elders to potentially inappropriate medications. *Rev APS*. 2011; 14(3):258-265.
9. Cassoni TCJ, Corona LP, Romano-Lieber NS, Secoli SR, Duarte YAO, Lebrão ML. Uso de medicamentos potencialmente inapropriados por idosos do Município de São Paulo, Brasil: Estudo SABE. *Cad. Saúde Pública*. 2014; 30(8):1708-1720.
10. Baldoni AO, Ayres LR, Martinez EZ, Dewulf NL, Santos V, Pereira L. Factors associated with potentially inappropriate medications use by the elderly according to Beers criteria 2003 and 2012. *Int J Clin Pharm*. 2014; 36(2): 316-324.
11. World Health Organization. Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology. Guideline for ATC classification and DDD assignment. WHO, Oslo, 2000.
12. Organização Mundial da Saúde. Classificação estatística internacional de doenças e problemas relacionados à saúde, 10a revisão. São Paulo: Centro Colaborador da OMS para a Classificação de Doenças em Português, 1995.
13. American Geriatrics Society 2015 Beers Criteria Update Expert Panel. American Geriatrics Society 2015 Update Beers Criteria for Potentially Inappropriate Medication Use in Older Adults. *Journal compilation, The American Geriatrics Society*. 2015; 1-20.
14. Tatro, DS. Drug interaction facts. Missouri: Wolters Kluwer Health; 2011.
15. Lacy et al. Drug Information Handbook. 19th ed. AphA, Lexi-Com, 2010-2011.
16. Cipolle RJ, Strand LM, Morley PC. Pharmaceutical Care Practice, First Edition, Mc-Graw Hill, New York, 1998.
17. Marin MJS, Cecilio LCO, Perez AEWUF, Santella F, Silva CBAS, FILHO JRG, Roceti LC. Caracterização do uso de medicamentos entre idosos de uma unidade do Programa Saúde da Família. *Cad. Saúde Pública*. 2008; 24(7): 1545-1555.
18. Rozenfeld S, Fonseca MJ, Acurcio FA. Drug utilization and polypharmacy among the elderly: a survey in Rio de Janeiro City, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2008; 23(1):34-43.
19. Ribeiro AQ, Rozenfeld S, Klein CH, César CC, Acurcio FA. Inquérito sobre uso de medicamentos por idosos aposentados, Belo Horizonte, MG. *Rev. Saúde Pública*. 2008; 42(4):724-732.
20. Cassoni TCJ, Corona LP, Lieber NSR, Secoli SR, Duarte YAO, Lebrão ML. Uso de medicamentos potencialmente inapropriados por idosos do Município de São Paulo, Brasil: Estudo SABE. *Caderno Saúde Pública*. 2014; 30(8):1708-1720.
21. Nascimento MMG, Ribeiro AQ, Pereira ML, Soares AC, Filho ALL, Junior CACD. Identification of inappropriate prescribing in a Brazilian nursing home using STOPP/START screening tools and the Beers' Criteria. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014; 50 (4):911-918.
22. Magalhães MEC. Mecanismos de rhabdomiólise com as estatinas. *Arq. Bras. Cardiol*. 2005, 85 (5): 42-44.
23. Telles Filho PCP, Chagas AR, Pinheiro MLP, Lima AMJ, Durão MAS. Utilização de benzodiazepínicos por idosos de uma estratégia de saúde da família: implicações para enfermagem. *Esc. Anna Nery*. 2011; 15(3): 581-586.
25. Gontijo MF, Ribeiro AQ, Klein CH, Rozenfeld S, Acurcio FA. Uso de anti-hipertensivos e antidiabéticos por idosos: inquérito em Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. *Cad. Saúde Pública*. 2012; 28(7): 1337-1346.
26. Lyra Júnior DP, Amaral RT, Veiga EV, Cárnio EC, Nogueira MS, Pelá IR. A farmacoterapia no idoso: revisão sobre a abordagem multiprofissional no controle da hipertensão arterial sistêmica. *Rev Latino-am Enfermagem* 2006; 14(3):435-441.

27. Júnior EDS, Sette IMF, Belém LF, Pereira GJS, JAA, Dantas AM. Eficácia e segurança no tratamento medicamentoso da Hipertensão Arterial em pacientes internados na clínica geral de um hospital público. *Rev. Bras. Farm.* 2008; 89(4): 302-307.
28. Food and Drug Administration. FDA drug safety communication: New restrictions, contraindications, and dose limitations for Zocor (simvastatin) to reduce the risk of muscle injury. 2011.
29. Lohiya GS, Tan-Figueroa L, Crinella FM, Lohiya S. Epidemiology and control of enterobiasis in a developmental center. *West J Med.* 2000, 172:305-308.
30. Oliveira REM, Filipin MDV, Giardini MH. Intervenções farmacêuticas destinadas à otimização da adesão ao tratamento medicamentoso de um paciente. *Rev Eletrônica de Farmácia.* 2014; 12 (2):39-51.
31. Nascimento MMG, Pereira ML, Soares AC, Ribeiro AQ, DIAS-JUNIOR CAC. Potential Drug Therapy Problems on an Elderly Nursing Home Population. *Lat. Am. J. Pharm.* 2011; 30 (10): 1985-1990.
32. Correr CJ, Pontarolo R, Ferreira LC, Baptista SAM. Riscos de problemas relacionados com medicamentos em pacientes de uma instituição geriátrica. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* 2007; 43 (1): 55-62.

CHEMICAL INTERACTION BETWEEN *Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume AND TWO DIFFERENT HOSTS

Aline Moreira de Siqueira^{1*}, Izabela Taiana Salazar Rogério¹,
Bruno Conde Esteves¹, Luciana Moreira Chedier¹,
Arthur Ladeira Macedo², Daniel Sales Pimenta¹

Recebido em: 24/06/2015

Aceito em: 19/05/2016

Publicado em: 31/12/2016

¹Universidade Federal de Juiz de Fora, MG

²Universidade Federal Fluminense, Niterói, RJ

*E-mail: alinemds1@yahoo.com.br

Abstract

Struthanthus marginatus (Desr.) Blume (“erva de passarinho”), Loranthaceae is a hemiparasitic species known for its popular use for respiratory tract infections. However, caution should be taken when using this plant, noting the possible presence of harmful components to health originating from their hosts. The aim of this study is to anatomically analyze it and evaluate *S. marginatus* hemiparasitic phytochemistry on hosts *Dombeya wallichii* Benth. & Hook (“dombéia”) and *Morus rubra* L. (blackberry) in order to compare if there is chemical variation influenced by hosts on the hemiparasitic species. For the phytochemical analysis, there were hexanic and methanolic extractions of *S. marginatus* leaves and stalks, as well as the stems of the hosts. The extracts were analyzed by GC/MS and HPLC, besides a thin layer chromatography performance. The analysis of the leaf extracts showed that -amyrin is the only compound found in *S. marginatus* leaves over *D. wallichii*. By HPLC only two similar compounds were detected and three different compounds to the parasite leaves comparatively analyzed in the two hosts. The analysis of the hexane extract revealed seven-like compounds in leaves of both herbs, and in *S. marginatus* leaves collected on *D. wallichii* are compounds with greater intensity, in addition to establishing the presence of two more compounds. These results suggest the occurrence of chemical variation influenced by the host, which is important for understanding the relationship between *S. marginatus* and their hosts and for the plant quality control.

Keywords: Hemiparasitic, Host, Medicinal plant, *Struthanthus marginatus*.

Interação química entre *Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume e dois hospedeiros diferentes**Resumo**

Struthanthus marginatus (Desr.) Blume (erva de passarinho) – Loranthaceae, é uma espécie hemiparasita conhecida por ser uma planta medicinal de uso popular para infecções das vias respiratórias. Alguns cuidados devem ser observados ao se utilizar essa planta como recurso terapêutico, atentando para a possível presença de substâncias tóxicas originadas de seus hospedeiros. Analisou-se a anatomia e avaliou-se a fitoquímica do hemiparasitismo de *S. marginatus* sobre os hospedeiros: *Dombeya wallichii* Benth. & Hook (dombéia) e *Morus rubra* L. (amora-negra), a fim de comparar se há variação química influenciada pelos hospedeiros sobre a espécie hemiparasita. Para as análises fitoquímicas, foram realizadas extrações hexânicas e metanólicas das folhas e caules de *S. marginatus*, assim como os caules dos hospedeiros. Os extratos analisados por CG-EM e CLAE, além da realização de cromatografia em camada fina. As análises do extrato hexânico revelaram que há sete substâncias semelhantes nas folhas das ervas, sendo que na erva coletada sobre *D. wallichii*, as substâncias estão com maior intensidade, e, além disso, constatou-se a presença de duas substâncias a mais. Na análise dos extratos hexânicos, α -amirina foi encontrada apenas na folha de *S. marginatus* sobre *D. wallichii*, sendo um possível indicador de diferença química influenciada pelos hospedeiros. O resultado do extrato metanólico mostrou semelhanças entre as folhas dos parasitas, com presença de flavonoides, além

de substâncias químicas observadas apenas em *S. marginatus* sobre *D. wallichii*, mostrando, também, variação química em hospedeiros diferentes.

Palavras-Chave: Hemiparasitismo, Hospedeiro, Planta medicinal, *Struthanthus marginatus*.

Interacción química entre *Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume y dos hospederos diferentes

Resumen

Struthanthus marginatus (Desr.) Blume (*erva de passarinho*) - Loranthaceae, el muérdago es una especie conocida por ser una planta de uso popular para infecciones del tracto respiratorio. Algunos cuidados deben ser observados cuando se utiliza esa planta como recurso terapéutico, poniendo atención especial en la posible presencia de sustancias tóxicas provenientes de sus hospederos. Se analizó la anatomía y se examinó la fitoquímica del hemiparasitismo de *S. marginatus* sobre los hospederos:

Dombeya wallichii Benth. Y Hook (*dombéia*) y *Morus rubra* L. (*zarzamora*, negro), con el objetivo de comparar si hay variación química influenciada por los hospederos sobre la especie muérdago. Para el análisis fitoquímico se realizaron extracciones hexánicas de las hojas y tallos de *S. marginatus*, y de los tallos de los hospederos. Los extractos analizados por CG-EM y CLAE, además de la realización de cromatografía en camada fina. El análisis del extracto hexánico reveló que hay siete sustancias semejantes en las hojas de las hierbas, siendo que en la hierba colectada sobre *D. wallichii*, las sustancias están con mayor intensidad, y, a parte de eso, se verificó la presencia de dos sustancias más. En el análisis de los extractos hexánicos, – amirina se encontró apenas una hoja de *S. marginatus* sobre *D. wallichii*, siendo un posible indicador de diferencia química influenciada por los hospederos. El resultado del extracto metanólico indicó semejanzas entre las hojas de los parásitos, con presencia de flavonoides, además de, sustancias químicas observadas solamente en *S. marginatus* sobre *D. wallichii*, presentando, también, variación química en hospederos diferentes.

Palabras-clave: Hemiparasitismo, Hospedeiro, Planta medicinal, *Struthanthus marginatus*.

INTRODUCTION

Species of *Loranthaceae* are recognized for their medicinal properties(1). This family that includes 70 genus and 800 species and has a pantropical distribution. In Brazil, there are around 10 genus and 100 species. All species are hemiparasites and are popularly known as *erva de passarinho* (mistletoe) due to their dependence on birds to deposit their seeds on the branches of other trees(2).

Hemiparasitic plants generally have a root structure known as haustorium, which penetrates the xylem to remove water and nutrients from the host to ensure their photosynthetic activity(3). In some species however the penetration of haustoria can reach only the phloem(4), which can generate a contamination with metabolites of the host.

Struthanthus marginatus (Desr.) Blume (*Loranthaceae*) is a medicinal plant that was included in the 1st edition of the Brazilian Pharmacopoeia by its popular use against infections in respiratory tract, such as bronchitis and pneumonia, and as decongestant in cough(5). Despite this, there are reports of poisoning by the tea of *S. marginatus* parasitizing a *Datura suaveolens* Humb, & Bonpl. The authors showed that atropine and other alkaloids were present in the ethanolic extract from both species. Once these alkaloids were never isolated before and are not common in *S. marginatus*, it is suggested that these compounds were absorbed by the haustorium of *S. marginatus*(6).

The aims of the present study are: (a) to analyze the anatomical structure of the haustorium of *S. marginatus* parasitizing two different hosts: *Morus rubra* L. (Moraceae) and *Dombeya wallichii* Benth. & Hook (Malvaceae) and (b) to evaluate the characteristics of the extracts of the hosts and parasite.

METHODS

Plant material

Leaves and stems of *S. marginatus*, *M. rubra* and *D. wallichii* were collected at the Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Juiz de Fora, with the vouchers deposited in the CESJ Herbarium under the numbers 54338, 54339 and 6009. Many hosts as parasites were under the same environmental conditions of climate and soil.

Histological anatomy

For anatomical analysis, freehand cross sections of branches were made of both parasitized hosts classical methodology as plant anatomy, using double staining with Astra blue and safranin^(7, 8).

Extractions

Plants were extracted by static maceration with *n*-hexane and methanol ACS grade (Sigma-Aldrich) successively, until exhaustion. The extracts made are show in Table 1.

Table 1. List of the extracts made of *Struthanthus marginatus*, *Morus rubra*, *Dombeya wallichii*

Plant	Solvent	Part	Extract
<i>Struthanthus marginatus</i> parasitizing <i>Morus rubra</i>	Hexane	Leaves	SMHL
		Stem	SMHS
	Methanol	Leaves	SMML
		Stem	SMMS
<i>Struthanthus marginatus</i> parasitizing <i>Dombeya wallichii</i>	Hexane	Leaves	SDHL
		Stem	SDHS
	Methanol	Leaves	SDML
		Stem	SDMS
<i>Morus rubra</i>	Hexane	Xylem	MHX
		Phloem	MHP
	Methanol	Xylem	MMX
		Phloem	MMP

continua...

Plant	Solvent	Part	Extract
<i>Dombeya wallichii</i>	Hexane	Xylem	DHX
		Phloem	DHP
	Methanol	Xylem	DMX
		Phloem	DMP

Source: Elaborated by the authors.

TLC analysis

Thin layer chromatography analyses were performed in Alugram SIL G/UV₂₅₄ plates (Macherey-Nagel, Düren, Germany). The solvent system was hexane: ethyl acetate (9:1) for hexanic extracts and ethyl acetate: methanol (8:2) for methanolic extracts, and the chemical revelators were sulfuric vanillin and resublimed iodine.

The same solvent concentrations were used in all tests to allow comparisons among results with the same intensity.

Gas chromatography/Mass spectrometry, GC/MS

This analysis was carried out using a Hewlett Packard 6890 gas chromatograph equipped with a fused silica capillary column (HP-5, 30 m x 0.25 mm, 0.25 µm film thickness), helium as carrier gas with a flow rate 1.0 mL/min; temperature programming from 70°C to 290°C (2°C/min), coupled to a Hewlett-Packard 5972 mass spectrometer. The MS operating parameters were 70 eV, ion source 250 °C equipped with EI.

HPLC analysis

Chemical profiles of samples were obtained by HPLC-DAD, in a Shimadzu (Kyoto, Japan) equipment with two LC-10AD pumps, DGU-12A degasser, SIL-10AD automatic injector, and SPD-M10AVP diode array detector (DAD). Data were collected by a SCL-10A interface controlled by the Shimadzu CLASS-VP 6.13 SP2 version software.

Samples were diluted to obtain a concentration of 2 mg/mL. 20 µL of each sample were injected in a Supelcosil - C18 column (250 mm x 46 mm - 5 µm), with a Supelcoguard - LC18 guard column (2 cm). The solvent system was a 0.05% trifluoroacetic acid aqueous solution (A) and acetonitrile HPLC grade (B). The system was put in a gradient from 5 to 65% of B (0 – 60 min), 65 to 100% of B (60 – 70 min), maintaining 100% of B (70 – 80 min) with a flow rate of 1 mL/min. The monitoring was conducted with a DAD detector sweeping between 200 e 400 nm, with the wavelengths of 220, 270, 335 and 360 nm being selected.

RESULTS

Histological anatomy

The lengthwise anatomical cut insertion haustorium of *S. marginatus* in the stem of the host (Figure 1) shows the interface in the phloem stratified in the outer portion, and inside the xylem. The haustorium is seen in the central part of Picture A, trespassing phloem.

Figure 1. Histological sections showing the hemiparasitic *Struthanthus marginatus*

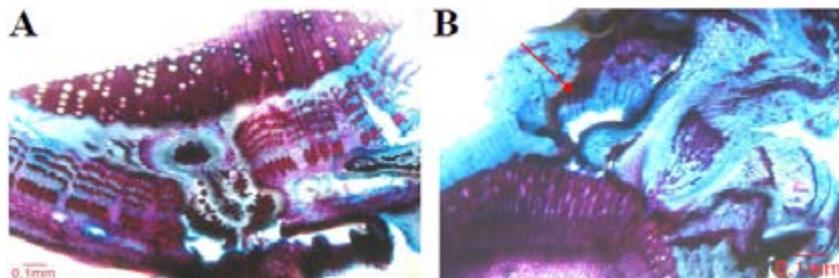


Fig. 1: A) Longitudinal view of the haustorium *Struthanthus marginatus* parasitizing the stem of *Dombeya wallichii* seen in cross section. B) Longitudinal view of the haustorium *Struthanthus marginatus* parasitizing the stems of *Morus rubra* seen in cross section (arrow in B indicates the lignified barrier).

Source: Elaborated by the authors.

Hexanic extracts

TLC analyses showed difference between SDHL and SDHS, and the latter showed a greater chemical variety. The analysis of the plates at 365 nm showed seven compounds in SMHL and nine in SDHL.

In TLC, the extracts of hosts xylems did not show identified similar compounds, and *D. wallichii* xylem with greater fluorescence intensity. The plates of hexane extracts revealed with resublimed iodine showed similar compounds in the leaves of both parasites, although with less intensity.

Table 2 shows the chemical constituents found in the leaf extracts of different species, identified by GC/MS.

Table 2. Comparison chemistry between hosts and parasites.

	Exclusive of <i>D. wallichii</i>	Exclusive of <i>M. rubra</i>	Common in both
Host phloem	—	Cis- β -amyrin-acetate; Naphthoquinone; Trans- β -amyrin-acetate	—
	4 (RT=3.05')	3 (RT=2.06')	5 (RT=3.7')
Host xylem	Lupenone; Sitostenone; 5. α .-stigmastane-3,6-dione	Gamma sitosterol	—
	1 (RT=1.15'); 2 (RT=1.95'); 6 (RR=9.8')	3 (RT=2.06'); 4 (RT=3.05'); 5 (RT=3.7')	—

continua...

	Exclusive of <i>D. wallichii</i>	Exclusive of <i>M. rubra</i>	Common in both
S. <i>marginatus</i> stalk	Nonacosane; β -amyrin; Lupenone; Lupenol;	—	—
	7 (RT=14.37'); 8 (RT=16.93')	4 (RT=3.05'); 6 (RT=9.8')	1 (RT=1.15'); 2 (RT=1.95'); F1 (RT=14.37')
S. <i>marginatus</i> leaf	α -amyrin	—	Nonacosane; β -amyrin; Lupenol
	2 (RT=1.95'); 7 (RT=14.37'), 8 (RT=16.93')	3 (RT=2.06'); 4 (RT=3.05'); 6 (RT=9.8')	F2 (RT=15.99'); F3 (RT=16.70')

The results in the first line refer to the analysis by GC -MS and the second line to HPLC analysis. Each number indicates a different compound evaluated by UV and TR. F corresponds to the probable chemical flavonoid group and (—) means that the compound was not detected. RT = Retention time.

Source: Elaborated by the authors.

Methanolic extracts

Table 2 highlights the difference between the chemical methanolic extracts of phloem and xylem of both hosts, with only a similar compound, called 5 (TR = 3.7'). Although different hosts showed different chemical characteristics, a similarity between the parasite leaves was found for the presence of a likely flavonoid group detected by UV being represented by F1 (TR = 14,37'), F2 (RT = 15 99') and F3 (TR = 16.70').

The compounds represented by the numbers 7 (TR = 14.37') and 8 (TR = 16.93') were found only in *S. marginatus* parasitizing *D. wallichii*, showing the chemical variation in different hosts, and the compound number 3 (TR = 2.06') in *S. marginatus* parasitizing *M. rubra*.

DISCUSSION

The anatomical sections showed that the root of the parasite goes through the xylem of the host plant. However, some species of *Loranthaceae* may have a decrease in their vegetative share and penetrate only in the phloem⁽¹⁰⁾. There is also a possibility of contamination if its host has some toxic substance.

Comparisons of the results obtained by thin layer chromatography (TLC) and GC/MS were done to associate the common compounds in each analysis, considering that both analyzed hexanic extracts. The CCD analysis of the hexanic extracts of *S. marginatus* on hosts under a 365nm UV light, showed marked differences between the stem extracts of both parasites when considering the intensity and the amount of the compound.

The extracts from *S. marginatus* leaves presented different compounds, corroborating the analysis done by GC/MS. α -amyrin (TR = 70.2') was present in the extract of *S. marginatus* collected on *D. wallichii* but was not present in the leaf of the

parasite collected on *M. rubra*, suggesting a changing in the chemical composition of the parasitic plant according to its host. α -amyrin has anti-inflammatory properties, inhibiting the activity of some kinases proteins .

The stems of *S. marginatus* collected on *D. wallichii* revealed more compounds than the other parasite, as seen in the results of GC/MS below, in which compounds as nonacosane (RT = 61'), β -amyrin (RT = 69.3'); lupenone (RT = 69.7') and lupenol (TR = 70.3') were identified in this analysis. Lupenol has a chemopreventive and chemotherapeutic potential in human cells(11).

In this analysis (Table 2), similar compounds were identified, nonacosane, β -amyrin and lupenol, in the leaves of both parasites and stem of *S. marginatus* parasitizing *D. wallichii*, indicating that the production of such compounds possibly did not influence by varying the host. In contrast, α -amyrin was found only in *S. marginatus* leaves on *D. wallichii*, indicating a possible chemical interference by the host. Similar compounds were not observed in the phloem and xylem between the two hosts.

The results of CCD analysis in methanolic extracts were compared to the results of HPLC, because both analyzed methanolic extracts. The analysis in TLC under UV light 365nm of *S. marginatus* methanolic extract on hosts revealed that extracts of *S. marginatus* leaves have a similar profile. However, when comparing these results to HPLC, one realizes that there really is such a compound, which is represented by 2 (TR = 1.95') in Table 2. There was the presence of 2 (TR = 1.95') in *S. marginatus* leaves on *M. rubra*, revealing that parasite plants do not possess all similar chemical constituents, which could be related to the hosts interference.

The HPLC results showed that the phloem of the hosts were not entirely equivalent regarding the chemical composition, but they had a common compound, represented by the number 5 (TR = 3.7'), as seen in Table 2.

The hemiparasitic relation shown in Picture 1 was chemically confirmed by GC/MS and HPLC (Table 2) to appear in the presence of the parasite compounds present only on the xylem of the respective host, when compared to those detected on the phloem.

Chemical results corroborate the hemiparasitic relationship between *S. marginatus* and the hosts observing gifts substances of the xylem hosts appear leaves and stems of their herbs. The chemical variation among the parasites suggests to hosts care exchange, being thus relevant for the quality control of this plant.

Acknowledgment

We would like to thank the Programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada à Conservação da Biodiversidade (PGECOL-UFJF), the university extension program Produção de Plantas Medicinais e Fitoterapia (PROEX-UFJF), CAPES, and the Plataforma Analítica Framanguinhos/FIOCRUZ for their support.

REFERENCES

1. Vieira OMC, Santos MH, Silva GA, Siqueira A. Atividade antimicrobiana de *Struthanthus vulgaris* (erva de passarinho), Alfenas, MG. Rev. Bras. Farmacognosia. 2005; 15(2): 149-154.
2. Souza VC, Lorenzi H. Botânica Sistemática. Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Instituto Plantarum de Estudos da Flora Ltda; 2005. p. 512.
3. Dettke GA, Gutierre MMA. Estudo anatômico dos órgãos vegetativos da hemiparasita *Phoradendron mucronatum* (DC.) Krug & Urb. (Viscaceae). Rev Bras Biocs. 2007; 5(1): 534 – 536.

4. Medel R, Botto-Mahan C, Smith-Ramirez C, Men MA, Ossa CG, Caputo L, Gonzales WL. Historia natural e cuantitativa de uma relacion parasito-hospedeiro: el sistema Tristerix-cactáceas em Chile semiárido. Rev Chil Hist Nat. 2002; 3(75): 127-140.
5. Pharmacopoeia dos Estados Unidos do Brasil. 1926. 1ª ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional.
6. Martins LGS, Vale LS, Lainetti R, Pereira NA. Um estudo sobre a toxicidade de erva-de-passarinho (*Struthanthus marginatus* (Desr.) Blume, Loranaceae), parasitando trombeteira (*Datura suaveolens*, Solanaceae). Rev. Bras. Farm. 2006; 87(2): 63-64.
7. Oliveira F, Saito ML. Práticas de morfologia vegetal. São Paulo: Atheneu; 1991. p. 198.
8. Kraus JE, Arduin M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica: EDUR; 1997.p. 132
9. Aragão GF. Atividade antiinflamatória, antiagregante plaquetária e efeitos centrais de alfa e beta amirina isolada de *Protium heptaphyllum* Aubl March [dissertação]. Ceará: Universidade Federal do Ceará; 2004.
10. Arruda, R. S. Especificidade de hospedeiros por *Struthanthus aff polyanthus* (Loranceae) em uma área de cerrado, Uberlândia, Minas Gerais. [dissertação mestrado] – Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, 2004.
11. Mukhtar H, Saleem M, Murtaza I, Tarapore RS, Suh Y, Adhami VM, Johnson JJ, Siddiqui IA, Khan N, Assim Hafeez BB, Shekhani MT, Li B. Lupeol inhibits proliferation of human prostate cancer cells by targeting beta-catenin signaling. Carcinogenesis. 2009; 5: 808-17.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE, CITOTOXICIDADE E GENOTOXICIDADE DO INFUSO DE MALVA-SANTA *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) SOBRE O CICLO CELULAR DE *Allium cepa*

Cleirton Martins Bezerra^{1*}, Caroline Matias Nascimento Dinelly¹

Maria Auxiliadora Silva Oliveira¹

¹Instituto Superior de Teologia Aplicada – INTA

E-mail*: ecobio@zipmail.com.br

Submetido em: 27/07/2015

Aceito em: 29/06/2016

Publicado em: 31/12/2016

Resumo

este trabalho tem como objetivo analisar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos do infuso de folhas de malva-santa (*Plectranthus barbatus*) em diferentes concentrações sobre o ciclo celular da cebola (*Allium cepa*). A metodologia consistiu na colocação das cebolas em contato com a infusão de malva-santa por um tempo. Em seguida, as cebolas foram medidas com uma régua, coradas e, por fim, analisadas no microscópio com objetiva de 40X. Os efeitos tóxicos, citotóxicos e genotóxicos foram avaliados através da inibição do crescimento radicular, dos índices mitóticos, do surgimento de aberrações cromossômicas e da ocorrência de micronúcleos. Foi evidenciado o efeito tóxico sobre os meristemas radiculares, pois em todos os tratamentos, as raízes tiveram seu crescimento inibido. O efeito citotóxico foi constatado pela análise das médias dos índices mitóticos, onde ficou notório que todos os tratamentos analisados apresentaram diminuição significativa na divisão celular e consequente diminuição no índice mitótico. A genotoxicidade foi evidenciada através das duas maiores concentrações analisadas, pois apresentaram uma frequência de aberrações cromossômicas estatisticamente relevantes.

Palavras-chave: Bioindicador, Cebola, Plantas Medicinais.

Evaluation of toxicity, cytotoxicity and genotoxicity of malva-santa *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) infused on the cell cycle of *Allium cepa*

Abstract

This work aims to analyze the possible toxic, cytotoxic, genotoxic and mutagenic effects of the infusion of mauve-santa leaves (*Plectranthus barbatus*) in different concentrations on the cell cycle of onion (*Allium cepa*). The onions were placed in contact with the infusion of Malva-santa. After some time, they were measured with a ruler. Then, the same were fixed, stained and examined under a microscope with a 40X objective. Toxic, cytotoxic and genotoxic effects were assessed by inhibition of root growth, mitotic indices, appearance of chromosomal aberrations and the incidence of micronuclei. It became evident the toxic effect on the root meristems, as in all treatments, the roots had their growth inhibited. The cytotoxic effect was found through the analysis of the mitotic indexes average, where it was possible to see that all treatments analyzed showed a significant decrease in cell division and the consequent reduction in mitotic index. The genotoxicity was observed through two largest concentrations analyzed, because they presented a frequency of statistically significant chromosomal aberrations.

Keywords: Bioindicator, Onion, Herbs.

Evaluación de la toxicidad, la citotoxicidad y la genotoxicidad de la infusión de malva-santa *Plectranthus barbatus* (Lamiaceae) en el ciclo celular de *Allium cepa*

Resumen:

Este trabajo tiene como objetivo analizar los posibles efectos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos y mutagénicos de la infusión de hojas de malva-Santa (*Plectranthus barbatus*) en diferentes concentraciones en el ciclo celular de cebolla (*Allium cepa*). Las cebollas se pusieron en contacto con la infusión de Malva-santa, después de algún tiempo se midieron con una regla, luego se fijaron, tiñeron y se examinaron con un microscopio con una objetiva de 40X. Los efectos tóxicos, citotóxicos y genotóxicos se evaluaron por la inhibición del crecimiento radicular, índices mitóticos, la aparición de aberraciones cromosómicas y la incidencia de micronúcleos. Se evidenció efecto tóxico en los meristemas radiculares, como en todos los tratamientos, las raíces tuvieron su crecimiento inhibido. El efecto citotóxico fue constatado mediante el análisis de las medias de los índices mitóticos, donde se verificó que todos los tratamientos analizados presentaron disminución significativa en la división celular y, consecuente reducción en el índice mitótico. La genotoxicidad se observó a través de las dos mayores concentraciones analizadas pues presentaron frecuencia de aberraciones cromosómicas estadísticamente significativas.

Palabras claves: Bioindicador, cebolla, Plantas medicinales.

INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos os homens buscam na flora recursos que possam melhorar suas condições de vida, possibilitando-os uma maior longevidade. As plantas sempre foram utilizadas como alimento e matéria-prima e a ingestão errônea de algumas delas possibilitou a descoberta de algumas propriedades destes vegetais. Ao longo dos anos as plantas foram observadas e seus usos passados tradicionalmente para as gerações seguintes mantendo viva a cultura local⁽¹⁾.

Na atualidade o uso de plantas medicinais está cada vez mais difundido, seja pelo aspecto econômico ou social. Segundo Anibal (2007)⁽²⁾ as plantas medicinais são uma rica fonte de novas substâncias e de novos compostos ativos, que podem resultar em valiosos produtos para a cura de doenças. O uso de plantas medicinais nos Estados Unidos e na Europa, principalmente na Alemanha, é bem disseminado e contam com rigorosas normas para certificar as preparações vegetais e seus respectivos empregos⁽³⁾.

No entanto, no Brasil, apesar do uso de plantas medicinais ser bem difundido, ainda há, entretanto, uma preocupação sobre esta prática, pois mais estudos são necessários. Existem muitas drogas vegetais em nosso país que não possuem registros na literatura sobre seus metabólitos, propriedades químicas, farmacológicas e posologia que possam assegurar o uso pela população sem o risco de apresentar alguma reação indesejada⁽³⁾.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) julga importante a realização de mais ensaios pré-clínicos com as plantas medicinais e de seus princípios ativos com o intuito de assegurar a sua efetividade farmacológica e estabilidade medicamentosa⁽⁴⁾. De acordo com a OMS, em torno de 60-80% da população global nos países subdesenvolvidos, possuem as plantas medicinais como alternativa para remediar seus males, devido às dificuldades socioeconômicas ou impossibilidade de acesso aos médicos e, conseqüentemente, aos medicamentos alopatícos⁽⁵⁾.

Sem dúvida alguma as preparações com plantas medicinais são uma interessante, eficaz, barata e acessível opção terapêutica às populações mais carentes na busca por alívio de suas dores, moléstias e alguns males que assolam sua saúde. No entanto, o uso dos vegetais medicinais deve ser visto com cuidado, pois grande parcela das "preparações caseiras" ainda

necessitam de estudos mais específicos e aprofundados que possam assegurar cientificamente suas características farmacológicas e dose terapêutica. Somente após esses estudos, torna-se possível assegurar que determinada planta possa ser utilizada para o tratamento de certas patologias ou como terapia alternativa, sem oferecer risco algum à saúde do usuário, como por exemplo, a interação com medicamentos alopáticos e alimentos, intoxicação, genotoxicidade, entre outras reações indesejáveis⁽³⁾.

Atualmente, torna-se cada vez mais imprescindível a realização de pesquisas científicas com o objetivo de avaliar ou descobrir possíveis ameaças que o uso terapêutico de plantas medicinais possam acarretar para a população. Sendo assim, se faz necessário a utilização de novas ferramentas para este fim. A busca por atividade mutagênica, genotoxicidade, tornou-se importante devido ao largo consumo de drogas de origem vegetal. Para Silva, Erdtmann e Henriques (2003)⁽⁶⁾, genotoxicidade é uma área da genética que avalia como determinados agentes podem ocasionar mudanças na estrutura físico-química e alteração no DNA nuclear.

Dentre as 300 espécies de ervas e arbustos perenes que constituem a família Lamiaceae, destaca-se o *Plectranthus barbatus* devido ao seu amplo cultivo no Brasil e pelo difundido uso de suas folhas no tratamento de problemas digestivos. *Plectranthus barbatus*, também conhecida como malva-santa, falso-boldo, boldo-brasileiro, boldo-do-reino, é uma planta subarborescente, aromática e perene, com poucos ramos, com até 1,5m de altura, com folhas ovais alongadas e de sabor muito amargo. Dentre seus constituintes fitoquímicos merecem destaque os metabólitos secundários como os diterpenos, inclusive alguns que apresentam importância farmacológica como a barbatusina, ciclobarbatusina, barbatusol, plectrina, carioal, plectrinona, entre outros⁽⁷⁾.

Segundo Teixeira et al. (2003)⁽⁹⁾ e Fachinetto et al. (2007)⁽¹⁰⁾, o sistema vegetal *Allium cepa*, tem sido utilizado com sucesso na obtenção de genotoxicidade dos extratos de várias plantas de uso medicinal. O teste com este sistema vegetal permite utilizar diferentes concentrações do extrato da planta em pesquisa, as alterações cromossômicas e as divisões das células meristemáticas das raízes da cebola, são usadas com bastante frequência com o objetivo de advertir a população sobre o consumo de determinado produto⁽¹¹⁾.

Para avaliar e prevenir a presença de agentes genotóxicos é necessário utilizar indicadores sensíveis que permitam detectar a ação desses compostos. Existem plantas que são consideradas ideais para o estudo de mutagênese, tanto em laboratório quanto em monitoramento *in situ*, atuando assim, como "bioindicadoras"⁽¹²⁾. Para isto, foram desenvolvidos diversos ensaios que possibilitam essa avaliação, um deles é o teste vegetal *Allium cepa*, utilizado como um bioindicador de genotoxicidade em extratos de plantas medicinais⁽¹³⁾.

Diante do exposto, os ensaios científicos com o intuito de avaliar a possível citotoxicidade e genotoxicidade de *Plectranthus barbatus*, faz-se necessário, pois trata-se de uma planta medicinal largamente utilizada no país e que ainda não apresenta todas as suas propriedades e mecanismos tóxicos totalmente elucidados.

Objetivou-se neste experimento avaliar os possíveis efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos de diferentes concentrações do infuso de folhas de *Plectranthus barbatus* através do sistema vegetal *Allium cepa*.

MATERIAL E MÉTODO

As folhas de malva-santa (*Plectranthus barbatus*) foram coletadas no Horto de Plantas Medicinais no Centro de Saúde da Família do Sumaré (Sobral/CE). Os bulbos de *Allium cepa* foram obtidos em redes de supermercados da cidade, todos de mesma procedência, de aparência saudável e não germinadas. O extrato aquoso de *Plectranthus barbatus* foi preparado como infusão, a partir de folhas frescas.

As bases dos bulbos (prato) das cebolas (*Allium cepa*) foram colocadas em contato direto com a infusão em recipientes a temperatura ambiente para enraizar. As capas mais externas e as raízes envelhecidas ou secas do bulbo foram retiradas para evitar o apodrecimento.

O primeiro tratamento (T1) da infusão de malva-santa foi baseada em uma dose usual, obtida na literatura, que é de 6g de folhas frescas em 250mL de água fervente(14); o segundo (T2), 12g de folhas frescas em 250mL de água fervente; e o terceiro (T3), com 18g de folhas frescas colocadas em 250mL de água fervente. O quarto tratamento (T4) foi o controle negativo que constou água mineral e para o controle positivo no quinto tratamento (T5) foi utilizado o paracetamol a 800mg/L.

Após o período de crescimento das raízes, as cebolas foram retiradas para se fazer a medição do comprimento com auxílio de uma régua. Imediatamente após a coleta as raízes foram fixadas em solução fixadora de Carnoy (etanol 95% + ácido acético glacial na proporção de 3:1 v/v) por período de 24 horas a temperatura ambiente⁽¹⁵⁾. As raízes foram lavadas três vezes com água destilada por cinco minutos. Em seguida, com auxílio de pinça e bisturi, foram retiradas os ápices radiculares com cerca de 1 mm, de cada raiz em cada tratamento (já fixadas) e foram fragmentados o máximo possível com bisturi.

Os fragmentos obtidos foram colocados em lâmina para coloração. Foi adicionado a esses fragmentos duas gotas de hematoxilina de Harris a 1%, colocado a lamínula por cima, envolvidas em papel toalha para retirar o excesso do corante e esmagadas com polegar. As lâminas foram analisadas em microscópio óptico, em objetiva de 40X(16). Para cada tratamento foram utilizados três bulbos. Para cada bulbo foi confeccionada uma lâmina. Em cada lâmina foram colocadas de seis a oito ápices radiculares. Foram feitas oito focagens de 50 células, totalizando 400 células por lâmina, com três lâminas para cada tratamento, totalizando 1.200 células analisadas por tratamento.

Para a análise dos efeitos tóxicos foram medidos os comprimentos das raízes, somados os resultados e calculado as médias simples. Para os efeitos citotóxicos, foram verificados os índices mitóticos (IM) de cada tratamento, os quais foram somadas as células em qualquer fase de divisão (prófase, metáfase, anáfase e telófase), dividindo-se pelo total de células contadas e multiplicando-se por 100⁽¹⁷⁾.

Para a análise dos efeitos genotóxicos foram observados todos os tipos de aberrações cromossômicas encontradas. Já para a avaliação dos efeitos mutagênicos foram registradas a ocorrência de micronúcleos.

As variáveis analisadas foram: comprimento radicular (cm), o índice mitótico (IM), as anomalias do ciclo mitótico (ACM), como cromossomos perdidos e pontes anafásicas, aberrações cromossômicas (AC's) e as anomalias interfásicas (AI), como células com micronúcleos, células binucleadas, células com núcleos ligados e brotos nucleares⁽¹⁸⁾.

Para a análise de AC's foram considerados: cromossomos soltos e fragmentos cromossômicos em todas as fases do ciclo (prófase, metáfase, anáfase e telófase), além de pontes e atrasos anafásicos, sendo todos os registros reunidos em uma só categoria para possibilitar a avaliação das AC's⁽¹⁹⁾.

As médias obtidas dos diferentes tratamentos, para as variáveis analisadas, foram comparadas pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises estatísticas foram feitas através de análise de variância de uma via (ANOVA).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 nos revela os resultados do teste de toxicidade sobre *Allium cepa* quando tratado com diferentes concentrações do infuso de malva-santa.

Tabela 1. Valores das médias do crescimento radicular de *A. cepa* submetidas à diferentes infusões de *Plectranthus barbatus*.

	Tratamentos				
	CN	T1	T2	T3	CP
Comprimento radicular (cm)	2,5 a	0,82 b	0,58 cd	0,71 bc	0,38 d

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias. DV: 0,08.

A toxicidade de *Plectranthus barbatus* sobre as raízes de *Allium cepa* foi notória neste trabalho. As raízes de *Allium cepa* expostas às diferentes concentrações da infusão de *Plectranthus barbatus* tiveram o desenvolvimento de suas raízes comparadas aos controles. A infusão apresentou toxicidade sobre o sistema vegetal *Allium cepa* em todos os tratamentos, pela inibição de meristemas de raízes. Ficou evidente a inibição do crescimento radicular da cebola, à medida que aumentava a concentração da infusão, como pode ser observado na Tabela 1. Os tratamentos e o controle positivo apresentaram diferenças estatísticas relevantes em comparação com o controle negativo.

Fachinetto et al. (2007)⁽¹⁰⁾ observaram a ação antiproliferativa sobre o ciclo celular da cebola com infusões de macela (*Achyrocline satureioides* DC), sendo que a ação inibitória da divisão celular aumentou conforme o aumento das concentrações das infusões. O crescimento de raízes pode ser regulado pela combinação entre atividades de divisão celular em meristemas mitoticamente ativos e com a alongação celular que acontece nas regiões proximais dos ápices das raízes⁽²⁰⁾. Assim, todas as concentrações causaram distúrbios de proliferação em meristemas de *Allium cepa*. Esses dados corroboram com os relatos sobre a importância do teste *Allium cepa*, especialmente por permitir análises macroscópicas e microscópicas, bem como pelas boas correlações com testes em mamíferos⁽⁹⁾.

O teste que avalia a germinação dos vegetais é um modelo amplamente utilizado para avaliar o potencial aleloquímico de extrato da planta ou de substâncias. Comparando os resultados obtidos com os encontrados por Fiskesjö (1985)⁽²¹⁾, pioneiro nesse sistema teste vegetal, conclui-se que a infusão de malva-santa possui, nas concentrações testadas, ação tóxica e/ou citotóxica sobre as raízes de *Allium cepa*. Munhoz e César (2014)⁽²²⁾ ao avaliarem a inibição do crescimento radicular de *Allium cepa* exposta a infusões de chá verde (*Camellia sinensis*), também obtiveram resultados semelhantes aos apresentados neste trabalho.

A Tabela 2 mostra o número total de células analisadas, assim como, de cada fase da mitose, avaliando, dessa forma, o efeito citotóxico sobre *Allium cepa*.

Tabela 2. Número de células no ciclo celular (interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase) em meristemas de raízes *A. cepa* tratadas com o infuso de *Plectranthus barbatus*.

	Tratamentos				
	CN	T1	T2	T3	CP
Total de células	1.200	1.200	1.200	1.200	1.200
Interfase	974	1.094	1.117	1.150	1.170
Prófase	196	94	72	42	30
Metáfase	11	05	03	01	00
Anáfase	09	03	01	02	00
Telófase	10	04	07	05	00
Total de mitoses	226 a	106 b	83 bc	50 cd	30 d

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias. DV: 4,25.

Conforme os dados da Tabela 2, verifica-se uma diminuição significativa no número de mitoses observadas nos tratamentos à medida que houve o aumento na concentração das infusões. Fica caracterizada que a infusão de malva-santa é citotóxica sobre as raízes de *Allium cepa* em todas as concentrações testadas. Na análise estatística é visto diferenças estatisticamente significativas dos tratamentos e do controle positivo em relação ao controle negativo.

O índice mitótico (IM), apresentado na Tabela 3, corresponde à relação do número de células em divisão e total de células observadas, em porcentagem. O índice mitótico diferiu significativamente do controle negativo em água de 18% para 8% no primeiro tratamento da infusão de malva-santa. Os tratamentos T2 e T3 não obtiveram diferenças significativas entre suas médias, mas em relação ao controle negativo, os dois tratamentos apresentaram uma redução do índice mitótico bastante importante. A redução do índice mitótico também foi significativa entre os dois controles, água pura sem cloro (negativo) e paracetamol 800mg/L (positivo).

Para os resultados de citotoxicidade (Tabela 3), foi observado que houve uma queda dos índices mitóticos para todos os tratamentos, em relação ao índice do controle negativo, cujos valores foram, de maneira geral, diferentes estatisticamente do teste controle. A inibição da divisão celular observada através dos valores dos índices mitóticos em *Plectranthus barbatus* demonstra que esta planta medicinal possui capacidade antiproliferativa. Bagatini et al. (2009)⁽²³⁾, realizaram estudos com *Solidago microglossa* (erva-lanceta) e demonstraram que essa espécie, na maior concentração estudada, causou uma redução no índice mitótico comparado com o controle negativo.

Tabela 3. Valor do índice mitótico em meristemas de raízes de *A. cepa* tratadas com o infuso de *Plectranthus barbatus*.

	Tratamentos				
	CN	T1	T2	T3	CP
% Índice Mitótico	18 a	08 b	06 bc	04 bc	02 d

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias. DV: 0,59.

Knoll et al. (2006)⁽²⁴⁾ obtiveram resultados similares ao deste trabalho, no qual demonstravam a atividade antiproliferativa de *Pterocaulon polystachyum* (quitoco), planta com propriedade amebicida, onde observaram que os índices mitóticos em uma das populações estudadas foram reduzidos de 7,5% a 0,03%. Os índices mitóticos encontrados para as infusões de macela (*Achyrocline satureioides* DC), e infalivina (*Artemisia verlotorum*) respectivamente, também apresentaram diminuição significativa quando comparados com o controle negativo em água^(10, 25). Para Hoshina (2002)⁽²⁶⁾, um decréscimo acentuado no índice mitótico é indicador de citotoxicidade da substância, já um aumento indica indução da divisão celular, o que pode induzir ao aparecimento de tumorização nos seres vivos. No trabalho em questão ocorreu um decréscimo significativo nos índices mitóticos.

Na Tabela 4 foram quantificadas as alterações cromossômicas durante a divisão celular das raízes da cebola tratadas com malva-santa.

Tabela 4. Número de aberrações cromossômica em meristemas de raízes de *A. cepa* tratadas com o infuso de *Plectranthus barbatus*.

Aberrações	Tratamentos				
	CN	T1	T2	T3	CP
Anáfase Irregular	00	02	01	02	00
Cromossomos soltos	00	02	08	15	00
Micronúcleos	00	00	03	04	06

continua...

Tratamentos					
Célula binucleada	00	01	01	00	00
Metáfase desorganizada	00	00	01	00	00
Prófase desorganizada	00	00	01	00	00
Total	00 c	05 bc	15 ab	21 a	06 bc

CN: controle negativo; CP: controle positivo. Médias seguidas de letras iguais indicam que no nível de 5% significância, não há diferença entre as médias. DV: 1,32.

O tratamento T3, com a maior concentração do infuso de *Plectranthus barbatus* (18g de folhas) apresentou um índice de aberrações cromossômicas significante em relação ao controle negativo, aos outros tratamentos e ao controle positivo (paracetamol 800 mg/L). O tratamento T2 (12g de folhas) apresentou uma média de aberrações cromossômicas com importante relevância, demonstrando que neste tratamento também há a ocorrência de efeito genotóxico. Portanto, pode-se inferir que o infuso de malva-santa induziu em pelo menos dois tratamentos (T2 e T3), uma considerável taxa de aberrações cromossômicas em *Allium cepa*, demonstrando assim, efeito genotóxico.

Vários trabalhos científicos comprovam a utilização do teste de *Allium cepa* como um ensaio importante na avaliação de genotoxicidade de extratos e infusões de plantas medicinais^(13,10). Dalla Nora et al. (2010)⁽²⁷⁾ e Souza et al. (2010)⁽²⁵⁾ também encontraram atividade genotóxica pelo teste de *Allium cepa* em extratos de *Psychotria myriantha*, *Mikania glomerata* e *Artemisia verlotorum*, respectivamente. Os agentes mutagênicos podem ser detectados, citologicamente pela inibição do ciclo celular, interrupção em metáfases, indução de alterações cromossômicas numéricas e estruturais e de trocas entre cromátides irmãs entre outros⁽²⁸⁾.

Segundo Silva et al. (2003)⁽³⁰⁾, a análise de alterações cromossômicas serve como teste de mutagenicidade e é um dos poucos métodos diretos para mensurar danos em sistemas expostos a agentes mutagênicos ou carcinogênicos potenciais.

CONSIDERAÇÕES

Através da análise dos resultados das diferentes concentrações de *Plectranthus barbatus* sobre o ciclo celular do sistema vegetal *Allium cepa*, foi possível verificar e comprovar a atividade tóxica e citotóxica pela significativa inibição do comprimento das raízes e inibição do ciclo celular das raízes, caracterizando a atividade antiproliferativa.

Na avaliação genotóxica, pelos menos duas concentrações do infuso mostraram-se como indutora de genotoxicidade através do aumento da frequência de aberrações cromossômicas, o que evidencia que as duas maiores concentrações testadas do infuso de malva-santa, em seu uso crônico, podem sim, causar danos ao DNA celular.

O presente estudo revelou mais uma constatação, que as plantas medicinais não estão livres de efeitos ou reações indesejáveis, pois precisam ser consumidas com cautela e seguindo o que preconiza a literatura. O uso racional das drogas vegetais é uma ação que precisa ser mais bem esclarecida para a população, além de necessitarem de mais e melhores estudos que comprovem suas características farmacológicas ou não, bem como seus possíveis males à saúde dos usuários. Dado que determinadas plantas medicinais largamente utilizadas pela população, já apresentaram, em algumas concentrações, efeitos tóxicos, citotóxicos, genotóxicos e mutagênicos como a droga vegetal neste presente estudo.

REFERÊNCIAS

1. Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.
2. Anibal PC. Potencial de ação antimicrobiana *in vitro* de extratos de plantas na inibição de *Candida* spp, *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*. 2007. 72 p. Dissertação (Mestrado em Biologia Buco-Dental) – Universidade Estadual de Campinas, Piracicaba, 2007.
3. Pinto AC, Veiga Júnior, VF, Maciel MAM. Plantas medicinais: cura segura? Química Nova, 2005; 28 (3): 519-528.
4. Santos MRA, Lima MR, Ferreira MG. Uso de plantas medicinais pela população de Ariquemes, RO. Horticultura Brasileira, 2008; 26 (2): 244–250.
5. Calixto JB. Twenty-five of research on medicinal plants in Latin America. Journal of Ethnopharmacology, 2005; 100 (1-2): 131-134.
6. Silva J, Erdtmann B, Henriques JAP. Genética toxicológica. Porto Alegre: Editora Alcance, 2003.
7. Matos FJA. Farmácias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades. 4. ed. Fortaleza: Editora UFC, 2002.
8. Albuquerque RL. Contribuição ao estudo químico de plantas medicinais do Brasil: *Plecthanthus barbatus* Andr. *Plecthanthus amboinicus* (Lour) Spreng. 2000. 166 p. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2000.
9. Teixeira RO, Camparoto ML, Mantovani MS, Vicentini VEP. Assessment of two medicinal plants, *Psidium guajava* L. and *Achillea millefolium* L. in vivo assays. Genetics and Molecular Biology, 2003; 26 (4): 551-555.
10. Fachinetto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Rev Bras de Farmacognosia, 2007; 17 (1): 49-54.
11. Vicentini VEP, Camparoto ML, Teixeira RO, Mantovani MS. *Averrhoa carambola* L., *Syzygium cumini* (L.) Skeels and *Cissus sicyoides* L.; medicinal herbal tea effects on vegetal and test systems. Acta Scientiarum, 2001; 23 (2): 593-598.
12. Guimarães IB, Alves ES, Caldini Júnior N, Lobo DJA, Lichtenfels AJFC, Saldiva PHN. Detection of the genotoxicity of air pollutants in and around the city of Sao Paulo (Brazil) with the *Tradescantia*-micronucleous (Trad-MCN) assay. Environmental and Experimental Botany, 2000; 44 (1): 1-8.
13. Bagatini MD, Silva ACF, Tedesco SB. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. Rev. Bras. de Farmacognosia, 2007; 17 (3): 444-447.
14. Matos FJA. Plantas medicinais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no nordeste do Brasil. 3. ed. Fortaleza: Imprensa Universitária/Edições UFC, 2007.
15. Sharma AK, Sharma A. Plant chromosomes: analysis, manipulation and engineering. Amsterdam: Harwood Academic Publishers, 1999.
16. Guerra M, Souza MJ. Como observar cromossomos: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002.
17. Pires NM, Souza IRP, Prates HT, Faria TCL, Pereira Filho IA, Magalhães PC. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. Rev. Bras. Fisiol. Veg., 2001; 13 (1): 55-65

18. Sturbelle, Pinho DS, Estani RG, Oliveira GR, Garcias GL, Martino-Roth MG. Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica de *Aloe vera* em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócito humanos binucleados. Rev. Bras. de Farmacognosia, 2010; 20 (3): 409-415.
19. Lucio Neto MP. Avaliação tóxica, citotóxica, genotóxica e mutagênica do composto 3-(2-cloro-6-fluorobenzil)-imidazolidina-2, 4-diona em células eucariotas. 2011. 120 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Piauí, 2011.
20. Shishkova S, Rost TL, Dubrovsky JG. Determinate root growth and meristem maintenance in angiosperms. Annals of Botany, 2008; 101: 319-340.
21. Fachinetto JM, Bagatini MD, Durigon J, Silva ACF, Tedesco SB. Efeito anti-proliferativo das infusões de *Achyrocline satureioides* DC (Asteraceae) sobre o ciclo celular de *Allium cepa*. Rev. Bras. de Farmacognosia, 2008; 17 (1): 49-54.
22. Fiskejö G. The *Allium*-test as a standard in environmental monitoring. Hereditas, 1985; 102 (1): 99-112.
23. Munhoz MGL, César ACG. Inibição do crescimento radicular de *Allium cepa* exposta a infusões de chá verde (*Camellia sinensis*). 5º Congresso Científico da Semana Tecnológica – IFSP:Bragança Paulista -SP, 2014.
24. Bagatini MD, Fachinetto JM, Silva ACF, Tedesco SB. Cytotoxic effects of infusions (tea) of *Solidago microglossa* DC. (Asteraceae) on the cell cycle of *Allium cepa*. Rev Bras de Farmacognosia, 2009; 19 (2B): 632-636.
25. Knoll MF, Silva ACF, Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Effects of *Pterocaulon polystachyum* DC. (Asteraceae) on onion (*Allium cepa*) root-tip cells. Genetics and Molecular Biology, 2006; 29 (1): 539-542.
26. Souza LFB, IV HDL, Pastori T, Tedesco M, Kuhn AW, Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Genotoxic potential of aqueous extracts of *Artemisia verlotorum* on the cell cycle of *Allium cepa*. International Journal of Environmental Studies, 2010; 67 (6): 871-877.
27. Hoshina MM. Avaliação da possível contaminação das águas do Ribeirão Claro – município de Rio Claro, pertencente à Bacia do rio Corumbataí, por meio de testes de mutagenicidade em *Allium cepa*. 2002. 52 p. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio Mesquita Filho”, São Paulo, 2002.
28. Dalla Nora G, Pastori T, IV HDL, Canto-Dorow TS, Tedesco SB. Antiproliferative and genotoxic effects of *Mikaniaglomerata* (Asteraceae). Biocell, 2010; 34 (3): 95-101.
29. Leme DM, Marin-Morales MA. *Allium cepa* test in environmental monitoring: A review on its application. Mutation Research, 2009; 682 (1): 71-81.
30. Silva J, Heuser V, Andrade V. Genética Toxicológica. Porto Alegre: Alcance, 2003.

ESTUDO DA ANATOMIA FOLIAR E CAULINAR E ANÁLISE DOS CONSTITUINTES QUÍMICOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DAS FOLHAS E CASCAS DOS FRUTOS DE *Citrus medica* L.

Danilo Luiz dos Santos¹, Thatiany Castro Lobo Pereira¹,
Helena Dias Ferreira¹, Stone de Sá¹, Leonice Manrique Faustino Tresvenzol¹,
Pedro Henrique Ferri¹, José Realino de Paula^{1*}, Tatiana de Sousa Fiuza¹,
Leonardo Luiz Borges²

Submetido em: 03/06/2016

Aceito em: 03/06/2016

Publicado em: 31/12/2016

¹Universidade Federal de Goiás

²Pontifícia Universidade Católica de Goiás

*E-mail: pjrpaula@gmail.com

Resumo

Citrus medica L. (*Rutaceae*) é utilizada popularmente como anti-inflamatória, anti-histamínica, diurética e calmante. Os objetivos deste trabalho foram: realizar o estudo anatômico das folhas e caules, determinar o teor de umidade do pó das folhas e das cascas dos frutos e analisar os componentes dos óleos essenciais das folhas e cascas dos frutos de *C. medica*. O estudo anatômico das folhas e dos caules foi realizado de acordo com as técnicas botânicas convencionais. O teor de umidade foi feito utilizando um analisador de umidade. Os óleos essenciais das folhas e das cascas foram obtidos por hidrodestilação em um aparelho de Clevenger e analisados por CG/EM. Entre os aspectos anatômicos foliares destacam-se as cavidades secretoras contendo material lipídico, estômatos paracíticos e cristais prismáticos. Os componentes majoritários dos óleos essenciais das folhas foram E-cariofileno (16,82%), limoneno (12,35%) e acetato de geranila (11,75%); e das cascas dos frutos, o limoneno (85,35% a 90,14%).

Palavras-chave: Rutaceae, limoneno, cidra.

Study of leaf and stem anatomy and analysis of chemical constituents of essential oils of leaves and fruit peels of *Citrus medica* L.

Abstract

Citrus medica L. (*Rutaceae*) is used in folk medicine as anti-inflammatory, antihistamine, diuretic and sedative. The aims of this study were: performing anatomical studies of leaves and stems; determine the moisture content of the powder of leaves and fruit peels; analyze the components of the essential oils from the leaves and fruit peels of *C. medica*. The anatomical study of the leaves and stems was performed in accordance with conventional botanical techniques. The determination of moisture content was done using a moisture analyzer. The essential oils of leaves and fruit peels were obtained by hydro distillation in a Clevenger apparatus and analyzed by GC/MS. The important anatomical aspects of *C. medica* were secretory cavities with lipid material, paracytic stomata and prismatic crystals. The major components identified in the essential oil of the leaves were E-caryophyllene (16.82%), limonene (12.35%) and geranyl acetate (11.75%), and of the fruit peels was limonene (85.35% to 90.14%).

Keywords: Rutaceae, limonene, cider.

Estudio de la anatomía foliar y caulinar y análisis de los constituyentes químicos de los aceites esenciales de las hojas y cáscaras de los frutos *Citrus medica* L.

Resumen

Citrus medica L. (Rutaceae) se utiliza popularmente como antiinflamatorio, antihistamínico, diurético y calmante. Los objetivos de este estudio fueron realizar el estudio anatómico de las hojas y tallos, determinar el contenido de humedad del polvo de las hojas y cáscaras de los frutos y analizar los componentes de los aceites esenciales de las hojas y la corteza de los frutos de *C. medica*. El estudio anatómico de las hojas y los tallos fue realizado de acuerdo con las técnicas botánicas convencionales. El contenido de humedad se hizo usando un analizador de humedad. Los aceites esenciales de hojas y la corteza fueron obtenidos por hidrodestilación en un aparato de Clevenger y se analizaron por GC/EM. Entre los aspectos anatómicos foliares de destacan las cavidades secretoras que contienen material lipídico, estomas paracíticos y cristales prismáticos. Los componentes principales de los aceites esenciales de las hojas eran E-cariofileno (16,82%), limoneno (12,35%) y geranila (11,75%) y cáscaras de los frutos el limoneno (85,35% a 90,14%).

Palabras-clave: Rutaceae, limoneno, cidra.

INTRODUÇÃO

Citrus medica L. (sinonímia *Aurantium medicum* (L.) M. Gómez) pertence à família Rutaceae, subfamília Rutoideae e tribo Aurantieae⁽¹⁾. Popularmente é conhecida como cidra⁽²⁾, baranambu, matulunga, gajanimbe⁽³⁾.

É uma arvoreta com cerca de 3 a 6 m de altura; ramos curtos, grossos, com espinhos de 3 a 4 cm comprimento nas axilas foliares⁽³⁾. As folhas são simples, alternas, com forma variando de ovalada-lanceolada, oblonga e elíptica, atingindo até 15 cm de comprimento, margem serreada, ápice arredondado; são glabras e lustrosas com coloração verde intensa e pontuações translúcidas⁽⁴⁾. Os pecíolos são curtos e não alados. As flores são brancas, perfumadas, pentâmeras; corola dialipétala, 1,5 a 2 cm comprimento; 10 estames brancos; ovário súpero, estilete terminal. O fruto é do tipo baga medindo até 30 cm de comprimento; apresenta uma coloração verde-amarelada, formato elipsoide, geralmente com pequeno mamilo apical; a casca é grossa, rugosa e com glândulas oleosas aderidas ao epicarpo; sua polpa é suculenta, doce ou ácida. As sementes são pequenas e lisas⁽⁴⁾.

Em Bangladesh, Índia e Indonésia, a casca da cidra é ingerida crua com arroz⁽⁵⁾. Na Espanha, as cascas da cidra são utilizadas como flavorizantes de medicamentos e na Guatemala, como flavorizantes de refrigerantes⁽⁶⁾. No Brasil, a casca da cidra é utilizada tradicionalmente na preparação de doces caseiros⁽²⁾.

Várias partes da planta são empregadas na medicina tradicional indiana: os frutos maduros são utilizados para dor de garganta e ouvido, tosse, asma, escorbuto, hemorroidas, como tônico cardíaco e contra vômitos; o extrato aquoso do fruto é sedativo e o chá das folhas é utilizado para induzir o sono⁽⁷⁾; as sementes são empregadas como vermífugas, como estimulantes e como tônico cardíaco^(3, 8).

Estudos realizados com indivíduos de *C. medica* detectaram nos frutos ações antimutagênica, anticancerígena⁽⁹⁾, analgésica⁽¹⁰⁾, anti-inflamatória, antioxidante, inibidora da alfa-glicosidase⁽¹¹⁾, antiúlcera⁽¹²⁾ e cardioprotetora⁽¹³⁾; nas cascas dos frutos, atividades antioxidante, analgésica e anti-inflamatória⁽¹⁴⁾; nas sementes, atividades antidiabética, hipocolesterolêmica e hipolipidêmica⁽¹⁵⁾; e nas folhas, atividades anti-helmíntica⁽¹⁶⁾ e estrogênica⁽¹⁷⁾.

Essien e Essien⁽¹⁸⁾ verificaram que o óleo essencial das folhas da *C. medica* exibiu atividade fungiotóxica contra 14 espécies de fungos, enquanto o extrato etéreo das folhas apresentou atividade anti-helmíntica contra *Pheretima posthumad*⁽¹⁶⁾. Patil e Patil⁽¹⁹⁾ verificaram ausência de toxicidade do extrato etanólico e benzênico das sementes dessa espécie em camundongos.

Como visto na literatura, a *C. medica* é utilizada popularmente no tratamento de algumas enfermidades, mas é necessário estabelecer parâmetros para a identificação da planta, bem como da droga vegetal, contribuindo com dados padrão para o controle de qualidade. Os parâmetros de identidade botânica são feitos através de ensaios macro e microscópicos, da parte utilizada como medicinal, bem como pela presença dos constituintes químicos característicos da espécie⁽²⁰⁾. A análise botânica é rápida e auxilia a verificar a autenticidade da amostra, a possível contaminação por outras espécies vegetais ou outras partes da planta, com o mínimo de equipamentos e reagentes, tornando-se econômica e não poluente, desde que se tenha matéria-prima íntegra⁽²¹⁾. A análise de amostras pulverizadas é mais complexa e exige o reconhecimento de estruturas microscópicas características e diferenciais, bem como da complementação com as análises químicas⁽²⁰⁾. Entretanto, a microscopia do pó auxilia a prever e a justificar a presença de certos elementos celulares e mesmo detectar eventuais contaminações pela presença de tecidos que, em princípio, não deveriam figurar no pó de uma determinada droga vegetal⁽²¹⁾.

Diante do exposto e da importância da espécie como medicinal, os objetivos do trabalho foram: realizar o estudo anatômico das folhas e caules de *C. medica*; determinar o teor de umidade do pó das folhas e das cascas dos frutos; identificar os componentes químicos dos óleos essenciais das folhas; e determinar a composição e a variabilidade dos componentes químicos dos óleos essenciais das cascas dos frutos de *C. medica*.

METODOLOGIAS

As folhas e caules de *Citrus medica* L. (Rutaceae) foram coletadas no município de Pirenópolis (15° 00' 14,5" Sul, 49° 54' 16,4" Oeste e 829m de altitude), no Estado de Goiás, Brasil (agosto 2009). Os frutos foram coletados nos municípios de Pirenópolis (agosto de 2009) (829 m de altitude, 15° 00' 14,5" Sul, 49° 54' 16,4" Oeste), Jandaia (setembro de 2009) (560 m de altitude, 17° 03' 20,0" Sul, 50° 16' 40,3" Oeste) e Santo Antônio do Descoberto (junho de 2009) (912 m altitude, 15° 56' 24" Sul, 48° 15' 18" Oeste)

A planta foi identificada pelo Prof. Dr. José Realino de Paula, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás; e uma exsiccata foi depositada no Herbário da Unidade de Conservação da UFG sob registros UFG/41493 (Pirenópolis), UFG/41496 (Jandaia), UFG/41405 (Santo Antônio do Descoberto).

Os frutos foram descascados e as cascas, bem como as folhas frescas, foram utilizadas para extração dos óleos essenciais.

Para a triagem fitoquímica e a microscopia de pó, as folhas e as cascas dos frutos foram secas em estufa com circulação de ar a uma temperatura de 40°C e trituradas em moinho de faca.

Estudo anatômico

Para o estudo anatômico foram utilizadas folhas provenientes do segundo e terceiro nós e ramos caulinares (2º entrenó) recém-coletados. As secções transversais e paradérmicas foram realizadas à mão livre, com auxílio de lâmina de aço inoxidável. Foram realizadas secções paradérmicas das faces adaxial e abaxial da lâmina foliar e secções transversais da lâmina foliar (região dos bordos e terço médio da região da internervura e da nervura principal); do pecíolo (região mediana) e dos ramos caulinares. Após a diafanização com solução de hipoclorito de sódio a 2%, as secções foram lavadas em água destilada, solução de ácido acético a 5% e submetidas à coloração com azul de Alcian/safranina 9:1⁽²²⁾ e testes histoquímicos com: cloreto férrico⁽²³⁾ (coloração negro-azulada indica presença de compostos fenólicos), Steinmetz – reagente polivalente⁽²⁴⁾ (coloração azul-preto presença de amido; coloração vermelho alaranjado presença de lipídeos; coloração vermelha evidencia cutina; coloração

dourada evidencia lignina; os cristais de oxalato de cálcio permanecem incolores) e lugol⁽²³⁾ (coloração azul-negra ou marrom muito escuro indica presença de amido).

Para a análise microscópica do pó obtido das folhas e cascas dos frutos, uma pequena quantidade de cada amostra foi colocada em uma lâmina à qual se adicionou uma gota do reagente de Steinmetz. O material foi coberto com lamínula e observado em microscópio de luz.

O registro fotográfico das estruturas anatômicas foi realizado em fotomicroscópio (Zeiss-Axiostar plus) com máquina fotográfica digital acoplada (Canon Power Shot G10), utilizando o *software* Axion Vision 4.8.

Triagem Fitoquímica

Para a triagem fitoquímica foram pesquisados: heterosídeos antraquinônicos (formação de fenatos de amônio), cumarinas (hidrólise alcalina e observação em luz ultravioleta), esteroides e triterpenos (reações de Liebermann-Burchard e Salkowski); heterosídeos digitálicos (reações de Liebermann-Burchard, Kedde e Keller-Kiliani); amido (lugol); alcaloides (reativos de Mayer, Dragendorff, Bouchardat, Bertrand, Hager, ácido tânico a 1%); heterosídeos flavonoides (reação de Shinoda; oxalo-bórica; com H₂SO₄ conc.; com hidróxidos alcalinos; cloreto de alumínio e cloreto férrico); heterosídeos saponínicos (índice de espuma); taninos (reações com gelatina, sulfato de quinina 1%, acetato de cobre 4%, cloreto férrico 2% e hidróxido de sódio a 20%) e metilxantinas (reação de murexida)^(21, 24).

A determinação do teor de umidade foi realizada em um analisador de umidade que produz radiação na região do infravermelho por meio de uma lâmpada de halogênio (Ohaus modelo MB35)⁽²⁵⁾. Inicialmente retirou-se a umidade do equipamento e pesou-se 0,5 g dos pós das folhas e das cascas dos frutos. O material foi distribuído uniformemente no coletor e a cuba foi aquecida até peso constante. Anotou-se o valor da umidade, em percentual, diretamente do *display* do aparelho. Os ensaios foram realizados em triplicata e calculou-se a média e o coeficiente de variação (CV).

Obtenção e análise do óleo essencial

Os óleos essenciais das folhas (150g) e cascas dos frutos (150g) da *C. medica* foram obtidos por hidrodestilação em um aparelho de Clevenger por duas horas. Os óleos essenciais foram dessecados com sulfato de sódio anidro e armazenados em freezer a -10°C. Os óleos essenciais foram submetidos a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM) no aparelho Shimadzu QP5050A utilizando uma coluna capilar de sílica fundida (CBP-5; 30m x 0,25mm x 0,25µm), mantendo-se um fluxo de 1 mL/min de Hélio, como gás de arraste, aquecimento com temperatura programada (60°C por 2 min, 3°C por min até 240°C, 10°C por min até 280°C e 280°C por 10 min), e energia de ionização de 70eV. Volume de injeção de 1 µL das amostras diluídas em diclorometano (20% p/v) no modo Split com uma razão de 1:50.

A identificação dos componentes dos óleos foi baseada no índice de retenção linear (Índice de Kovats), calculado em relação ao tempo de retenção de uma série homologa de n-alcenos (C₈-C₃₂)⁽²⁶⁾ e no padrão de fragmentação observado nos espectros, por comparação com amostras autênticas⁽²⁷⁾ ou por comparação com uma base de dados - MS computadorizada utilizando a biblioteca⁽²⁸⁾.

Para calcular o rendimento dos óleos essenciais foi feita uma relação entre o volume do óleo essencial obtido no aparelho de Clevenger e a quantidade de folhas e de epicarpós utilizados (v/p) em porcentagem.

Análise estatística

Para verificar a variabilidade química entre os compostos químicos dos óleos essenciais das cascas dos frutos foi utilizada a análise de variância (ANOVA), segundo um critério: valores de $p \leq 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

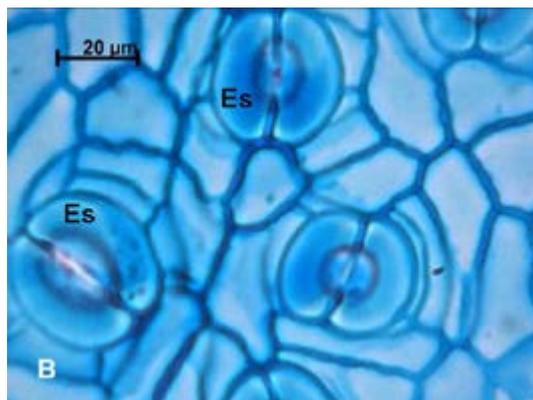
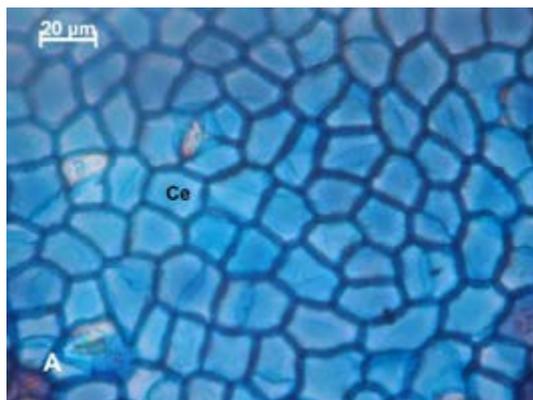
RESULTADOS

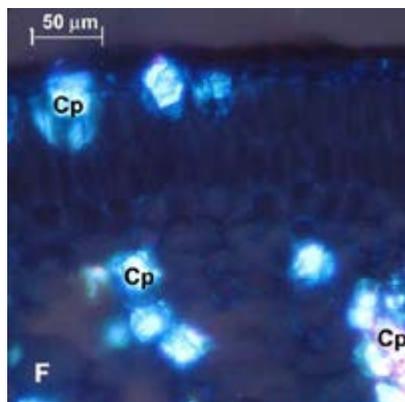
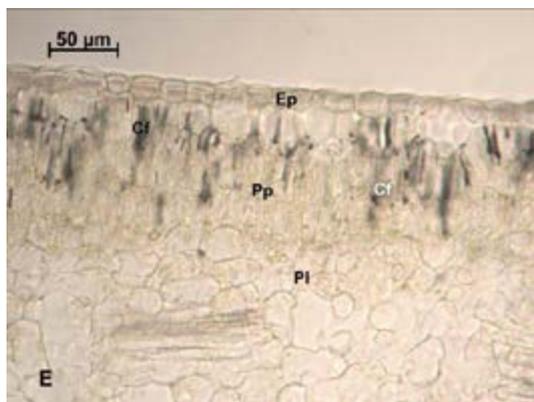
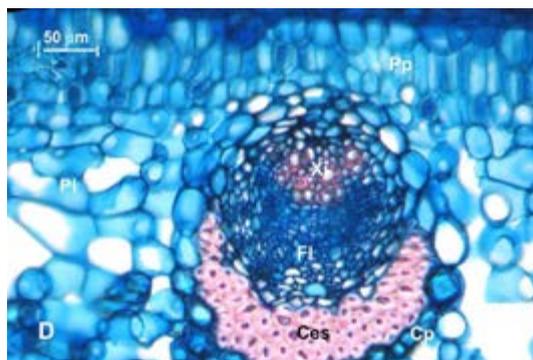
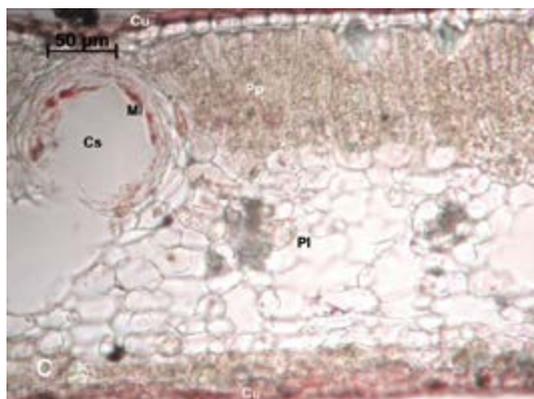
Estudo anatômico

A folha de *C. medica* é glabra e possui epiderme unisseriada, com células de paredes retas a levemente encurvadas em ambas as faces (Figura 1A), revestida com cutícula delgada (Figura 1C). É hipoestomática, com estômatos do tipo paracíticos (Figura 1B).

O mesofilo é dorsiventral, com parênquima paliçádico formado por cerca de três a quatro camadas de células (Figuras 1C-E), apresentando compostos fenólicos (Figura 1E); o parênquima lacunoso ocupa 2/3 do mesofilo, com nove a onze camadas de células (Figuras 1C, 1D). Apresenta feixe vascular colateral com calota esclerenquimática externa ao floema (Figura 1D). Cavidades secretoras com material lipídico (Figura 1C) e cristais prismáticos (Figura 1F) ocorrem ao longo do mesofilo.

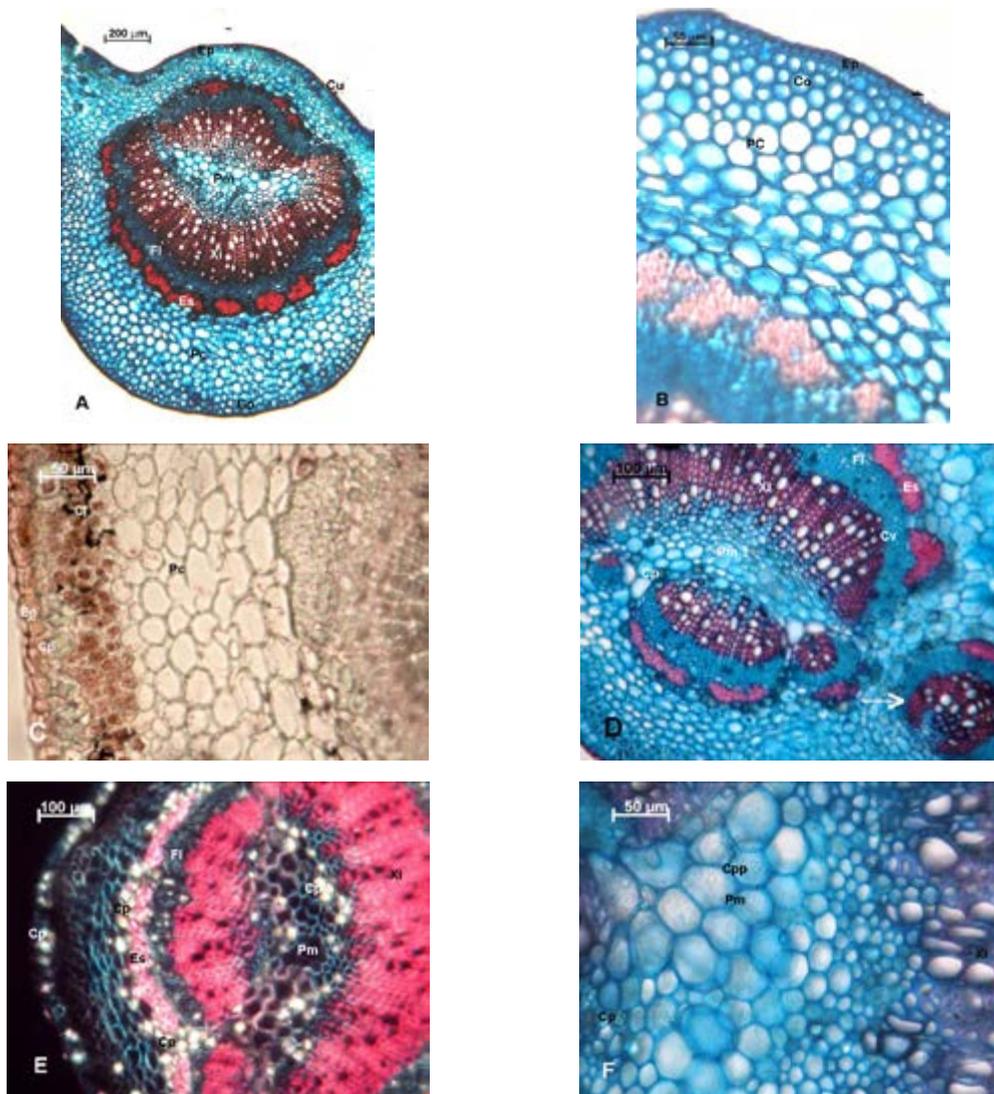
Figura 1. Lâmina foliar de *C. medica*. A - Face adaxial da epiderme em secção paradermica. B - Face abaxial da epiderme evidenciando estômatos do tipo paracítico em secção paradermica. C - Aspecto geral do mesofilo. Presença de cavidade secretora com material lipídico evidenciado pela reação histoquímica de Steinmetz. D - Aspecto geral do mesofilo com destaque para o feixe vascular. E - Aspecto geral do mesofilo evidenciando compostos fenólicos no parênquima paliçádico pela reação com cloreto férrico. F - Cristais prismáticos na epiderme, nos parênquimas paliçádicos lacunosos evidenciados sob luz polarizada. Ce – células da epiderme, Cf – compostos fenólicos, Cp – cristal prismático, Cs – cavidade secretora, Cu – cutícula, Ep - epiderme, Es – estômato, Ces – calota esclerenquimática, MI - material lipídico, PI – parênquima lacunoso, Pp - parênquima paliçádico, Xi – Xilema, A-D - Azul de Alcian/Safranina, C – Steinmetz, E - Cloreto férrico.





A nervura principal, em secção transversal, possui contorno convexo em ambas as faces (Figura 2A). Sob a epiderme ocorre colênquima angular (Figura 2A e 2B), seguido do parênquima cortical. Observam-se dois feixes vasculares colaterais côncavos, um central maior e outro de menor calibre (Figura 2D, seta), formando um arco aberto, com faixa esclerenquimática externa ao floema, interrompida por células parenquimáticas (Figura 2D). Ocorrência de cristais prismáticos em toda a nervura principal (Figura 2E). O parênquima medular tem células de tamanhos variados com campos primários de pontuações (Figura 2F).

Figura 2. Secções transversais da nervura principal de *C. medica*. A - Aspecto geral. B - Detalhe da região cortical. C - Detalhe da região cortical evidenciando compostos fenólicos no colênquima pela histoquímica de Steinmetz. D - Feixes vasculares maior e menor (seta). E - Nervura principal evidenciando cristais prismáticos sob a luz polarizada. F - Região medular. Cf - Compostos fenólicos, Co – colênquima, Cp - cristal prismático, Cpp – campos primários de pontoações, Cu – cutícula, Cv – câmbio vascular, Ep - epiderme, Es – esclerênquima, Fl – floema, Pc – parênquima cortical, Pm – parênquima medular, Xi – xilema, A, B, D, E e F - Azul de Alcian/Safranina, C - Steinmetz.

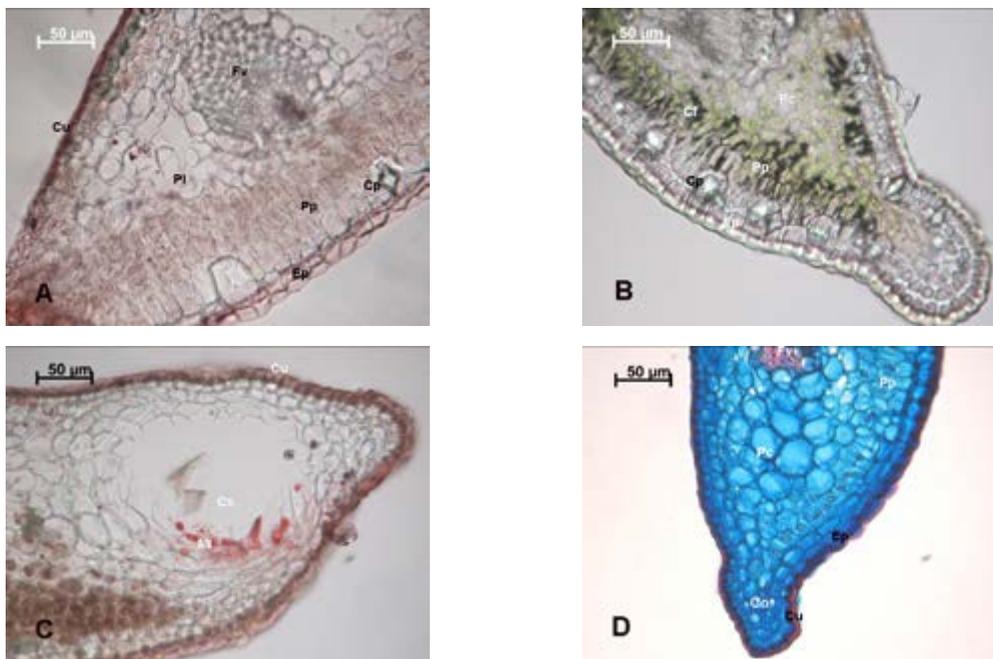


O bordo, região basal da lâmina foliar, apresenta parênquima paliçádico e lacunoso entre o último feixe vascular e a epiderme. Presença de cristais prismáticos (Figura 3A).

O bordo, região mediana da lâmina foliar, possui cristais prismáticos, parênquima paliçádico contendo compostos fenólicos entre o último feixe vascular e a epiderme (Figura 3B) e cavidade secretora com material lipídico (Figura 3C).

O bordo, região apical da lâmina foliar, apresenta parênquima clorofiliano entre o último feixe vascular e a epiderme (Figura 3D).

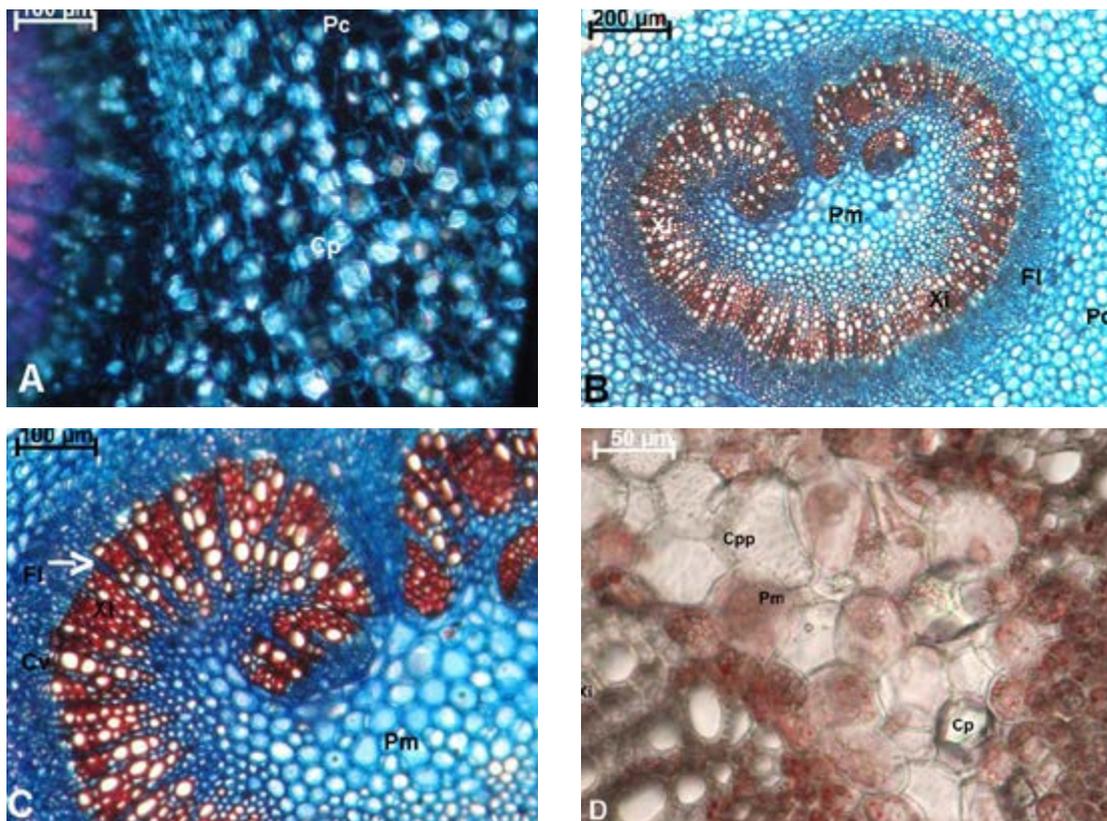
Figura 3. Secções transversais da lâmina foliar de *C. medica* nas regiões dos bordos. A - Bordo da região basal da lâmina foliar com histoquímica de Steimetz evidenciando cutícula delgada (cutina) e cristais de oxalato de cálcio (incolor). B - Bordo da região mediana da lâmina foliar com histoquímica com cloreto férrico evidenciando compostos fenólicos no parênquima paliçádico. C - Bordo da região mediana da lâmina foliar com histoquímica de Steimetz evidenciando material lipídico no interior da cavidade secretora e cutícula (cutina). D - Bordo apical. Cf – compostos fenólicos, Co – Colênquima, Cp - cristal prismático, Cs – cavidade secretora, Cu – cutícula, Ep - epiderme, MI - material lipídico, Pc – parênquima clorofiliano, Pl – parênquima lacunoso, Pp - parênquima paliçádico, Fv – feixe vascular. A e C - Steinmetz. B - Cloreto férrico. D - Azul de Alcian/safranina.



O pecíolo possui forma plano-convexa. A epiderme é unisseriada, seguida de parênquima cortical com numerosos cristais prismáticos (Figura 4A). O sistema vascular, em início de crescimento secundário, apresenta-se em forma de arco com extremidades invaginadas (Figura 4B). Observam-se floema secundário e raios parenquimáticos uni a bisseriados no xilema

(Figura 4C). Verificam-se no parênquima medular células de tamanhos variados com campos primários de pontuações e cristais prismáticos no floema e no parênquima medular (Figura 4D).

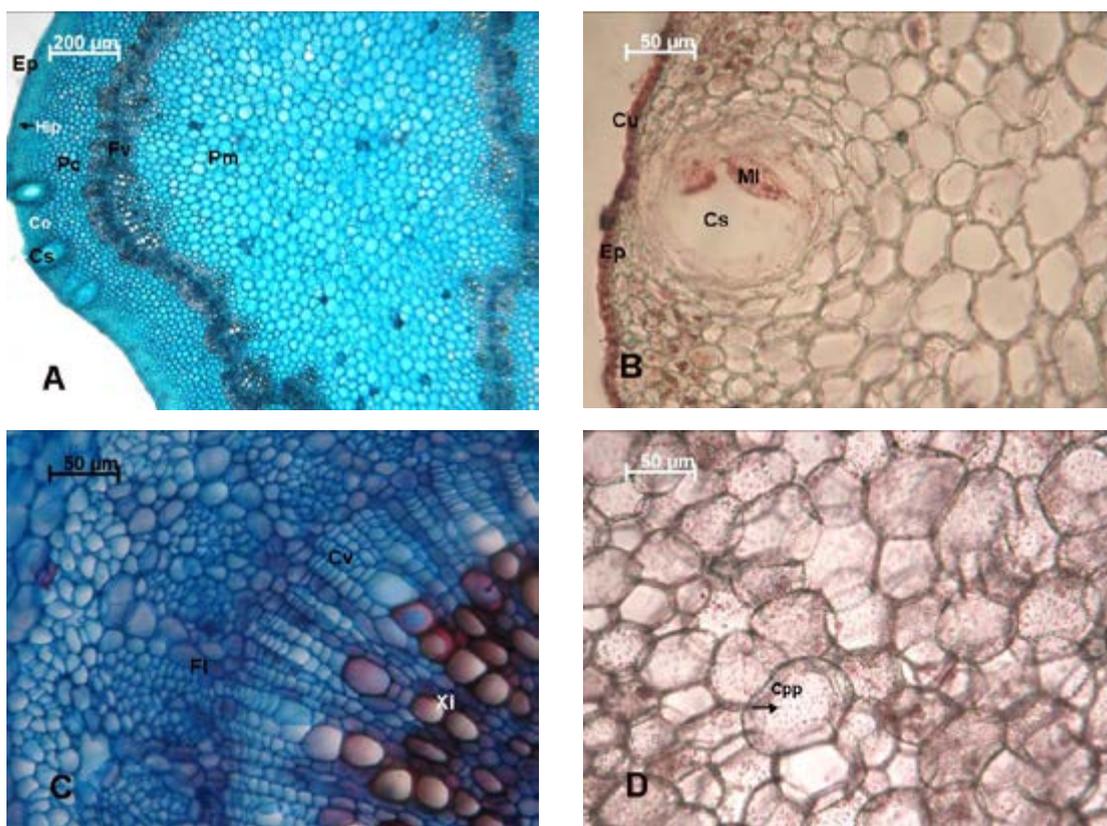
Figura 4. Secções transversais do peciolo de *C. medica*. A - Região cortical evidenciando numerosos cristais prismáticos – luz polarizada. B - Sistema vascular aspecto geral. C - Sistema vascular evidenciando raios parenquimáticos (seta). D - Região medular com histoquímica de Steimetz evidenciando células de tamanhos variados com campos de pontoações primários e cristais prismáticos. Cp - cristal prismático, Cv – câmbio vascular, Fl – floema, Pc – parênquima cortical, Pm – parênquima medular, Cpp – campos primários de pontoações primárias, Xis – xilema secundário. A-C - Azul de alcian/ safranina. D-Steinmetz.



O caule na região do segundo entrenó, em secção transversal, tem forma oval-elíptica. A epiderme é unisseriada, revestida por cutícula delgada e hipoderme (Figura 5A). Na região cortical ocorrem cavidades secretoras com material lipídico próximo à epiderme (Figuras 5A e 5B), colênquima angular com três a cinco camadas de células, seguido de parênquima com células de tamanhos variados (Figuras 5A e 5B). Externamente ao floema, faixas esclerenquimáticas são interrompidas por células

parenquimáticas. O sistema vascular encontra-se em início de crescimento secundário (Figuras 5A e 5C). O parênquima medular contém células de tamanhos variados com campos primários de pontoações (Figura 5D).

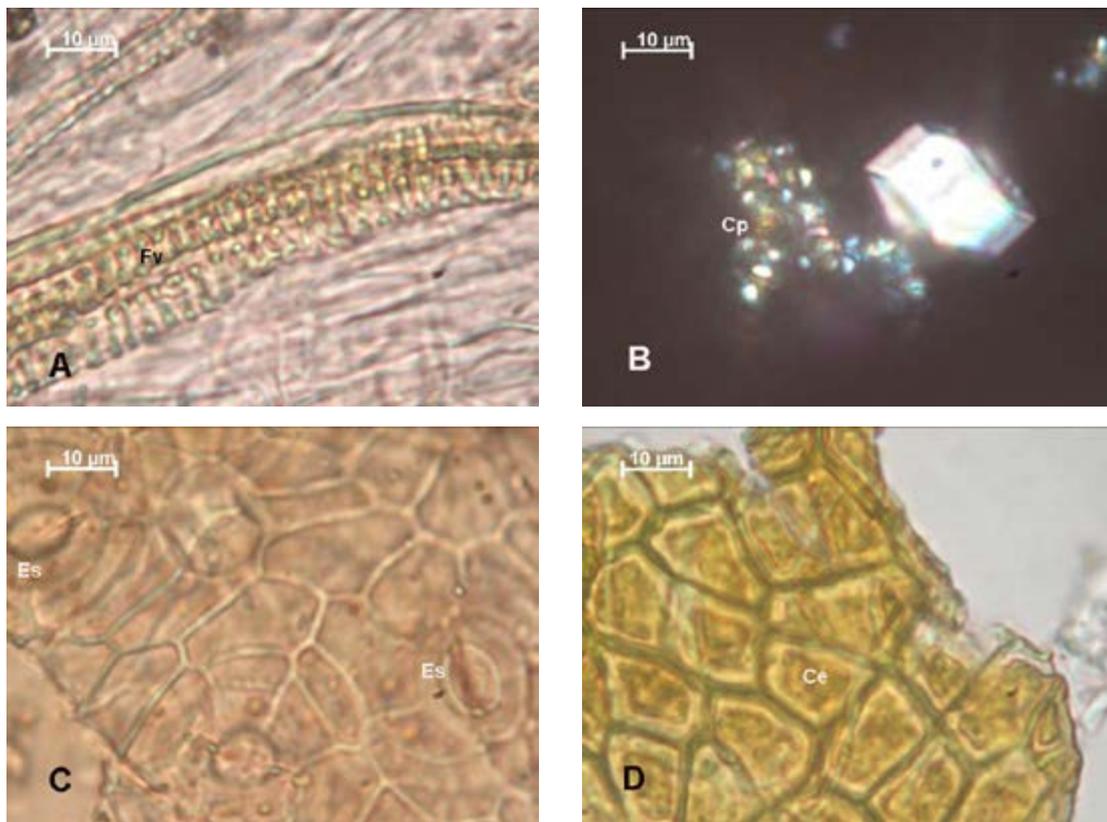
Figura 5. Secções transversais do caule de *C. medica* na região do 2o entrenó. A - Aspecto geral. B - Região cortical com reação de Steimetz evidenciando material lipídico no interior da cavidade secretora e cutícula delgada (cutina). C - Sistema vascular evidenciando floema secundário, câmbio vascular e xilema. D - Detalhe do parênquima medular evidenciando campos primários de pontoações. Co – colênquima, Cs – cavidade secretora, Cu – cutícula, Cv – câmbio vascular, Ep – epiderme, Fl – floema, Fv - Feixe vascular, Hip - hipoderme (seta), MI – material lipídico, Pc – parênquima cortical, Pm – parênquima medular, Cpp – campos primários de pontoações (seta), Xi – xilema. A e C - Azul de Alcian/safranina. B e D - Steinmetz.

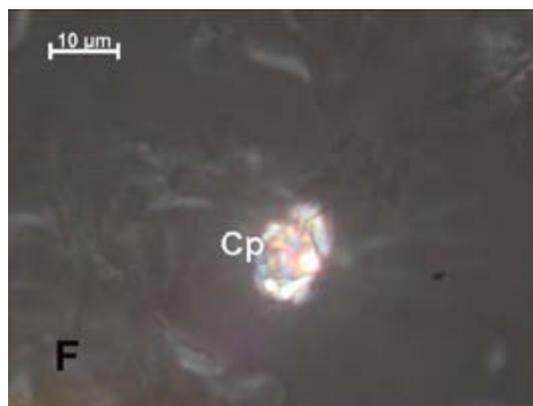


Na análise microscópica do pó obtido das folhas foram observados feixes vasculares com espessamento em anel (Figura 6A), cristais prismáticos (Figura 6B), estômatos paracíticos e células da epiderme contendo material lipídico (Figura 6C).

Na microscopia do pó das cascas dos frutos foram visualizadas células da epiderme com paredes retas levemente encurvadas (Figura 6D), grãos de amido (Figura 6E) e cristais prismáticos (Figura 6F).

Figura 6. Microscopia de pó das folhas e das cascas dos frutos. A, B e C (folhas). D, E e F (cascas dos frutos). A - Feixes vasculares com espessamento em anel. B - Cristais prismáticos evidenciados em luz polarizada. C - Fragmento da face abaxial da lâmina foliar evidenciando estômatos. D - Fragmento da casca evidenciando células epidérmicas. E – Grãos de amido evidenciados pela histoquímica com reagente de Steinmetz. F - Cristais prismáticos evidenciados em luz polarizada. Ce - célula epidérmica, Cp - cristais prismáticos, Es – estômato, Fv - feixes vasculares com espessamento em anel, Ga – grãos de amido. Steinmetz.





Triagem fitoquímica

No pó das folhas da *C. medica* foram detectados flavonoides, triterpenos, cumarinas e saponinas; e no pó das cascas dos frutos, flavonoides, triterpenos, cumarinas e amido.

O teor de umidade médio para o pó das folhas foi de 8,17%, com coeficiente de variação (CV) de 2,22 e para o pó das cascas dos frutos de 6,22%, CV de 3,90.

Óleos essenciais

O rendimento do óleo essencial foi de 1,6% para as folhas e de 3,5% em média para a casca dos frutos.

No óleo essencial das folhas de *C. medica* foram identificados 27 compostos, sendo os componentes majoritários o E-cariofileno (16,82%), o limoneno (12,35%) e o acetato de geranila (11,75%) (Tabela 1). No óleo essencial das cascas dos frutos foram identificados, no total, 23 compostos químicos (21 na amostra de Pirenópolis, 12 na de Jandaia e 17 na de Santo Antônio do Descoberto), em sua maioria hidrocarbonetos monoterpênicos (>90%). Desses compostos, dez (β -pineno, limoneno, β -mirceno, Z- β -ocimeno, E- β -ocimeno, citronelol, nerol, geraniol, trans-cadina-1(6),4-dieno, β -bisaboleno) estavam presentes em todas as amostras, sendo o limoneno o componente majoritário (85,35% a 90,14%) (Tabela 2). Não houve variabilidade significativa entre os componentes químicos majoritários das amostras de óleo essencial das cascas de *C. medica* coletadas em Pirenópolis, Jandaia e Santo Antônio do Descoberto/GO (Tabelas 3 e 4).

Tabela 1. Compostos identificados no óleo essencial das folhas de *C. medica* e seus respectivos teores expressos em porcentagens relativas (%)

Constituintes	KI	Óleo essencial das folhas de <i>C. medica</i> (%)
Sabineno	975	0,30
β -Pineno	979	2,15
Mirceno	990	0,40

continua...

Constituintes	KI	Óleo essencial das folhas de <i>C. medica</i> (%)
Limoneno	1029	12,35
1,8-Cineol	1031	0,59
Linalol	1096	1,44
n-Nonanal	1100	0,42
Citronelal	1153	5,16
α -Terpineol	1188	0,57
Citronelol	1225	2,26
Acetato de linalila	1257	3,99
Geranial	1267	4,42
Undecanal	1306	0,51
Acetato de citronelila	1352	1,70
Acetato de nerila	1361	5,65
Acetato de geranila	1381	11,75
E-Cariofileno	1419	16,82
α -trans-Bergamoteno	1434	2,24
α -Humuleno	1454	1,60
Trans-cadina-1(6),4-dieno	1476	1,02
Biclogermacreno	1500	0,45
β -Bisaboleno	1505	5,46
δ -Amorpheno	1512	0,60
E-Nerolidol	1563	1,93
Óxido de cariofileno	1583	2,35
epi- -Bisabolol	1682	0,67
Pseudofitol	2018	1,04
Hidrocarbonetos monoterpeneo		15,20
Monoterpenos oxigenados		37,53
Hidrocarbonetos sesquiterpenos		28,19
Sesquiterpenos oxigenados		5,99
Outros		0,93
Total		87,84

Tabela 2. Porcentagem dos constituintes químicos dos óleos essenciais das cascas dos frutos de *C. medica* coletados em três diferentes regiões da zona rural de Goiás

Constituintes	KI	Óleo essencial das cascas dos frutos de <i>C. medica</i>		
		Pirenópolis	Jandaia	Santo Antonio do Descoberto
		Cascas dos frutos (%)	Cascas dos frutos (%)	Cascas dos frutos (%)
Triciclono	926	0,32	-	-
α -Pinenol	939	-	0,29	0,41
Sabineno	975	0,14	-	-
β -Pinenol	979	0,36	0,27	0,18
Mirceno	990	1,97	1,94	2,41
Limoneno	1029	85,35	90,14	87,49
Z- β -Ocimeno	1037	0,91	0,58	0,84
E- β -Ocimeno	1050	1,29	0,81	1,16
Linalol	1096	0,24	-	0,35
n-Nonanal	1100	0,15	-	-
Citronelal	1153	0,22	-	-
α -Terpineol	1188	-	-	0,19
Citronelol	1225	0,51	1,27	0,22
Nerol	1229	1,70	0,91	1,43
Geraniol	1252	0,32	1,52	2,08
Geranial	1267	2,40	1,36	
Undecanona	1294	0,20	-	-
Neril acetato	1361	1,10	-	0,22
Geranil acetato	1381	0,29	-	0,20
E-Cariofileno	1419	0,91	-	0,52
α -trans-Bergamoteno	1434	0,34	-	0,47
Trans-Cadina-1(6), 4-dieno	1476	0,78	0,40	1,01
β -Bisaboleno	1505	0,51	0,50	0,81
Hidrocarbonetos monoterpênicos		90,02	94,03	92,49
Monoterpenos oxigenados		6,78	5,06	4,69
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos		2,54	0,90	2,81
Sesquiterpenos oxigenados		-	-	-
Outros		0,35	-	-
Total identificados (%)		99,69	99,99	99,99

(-) = não identificados

Tabela 3. Análise de variância dos óleos essenciais das cascas dos frutos de *C. medica*

Comparação entre os componentes do óleo essencial das cascas dos frutos				
FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	
Tratamentos		2	12.0 e-06	60.0 e-07
Error		66	21.8 e+03	330.421
F = 0.0000				
(p) = 0.9999				

Tabela 4. Resumo da análise de variância dos componentes majoritários dos óleos essenciais das cascas dos frutos de *C. medica*

Comparação entre os compostos majoritários das cascas dos frutos de <i>C. medica</i>				
FONTES DE VARIAÇÃO	GL	SQ	QM	
Tratamentos		2	1.994	0.997
Error		12	17.9 e+03	14.9 e+02
F = 0.0007				
(p) = 0.9992				

DISCUSSÃO

Como o aspecto mais crítico da matéria-prima vegetal destinada à produção de preparações fitoterápicas é a sua qualidade⁽²⁹⁾, o presente trabalho contribuiu com aspectos anatômicos, fitoquímicos e químicos dos óleos essenciais das folhas e cascas dos frutos de *C. medica*, que podem auxiliar no controle de qualidade dessa planta.

Em relação aos estudos anatômicos, os estômatos paracíticos encontrados em *C. medica* são típicos de Rutaceae⁽³⁰⁾ e também foram descritos para outras espécies de *Citrus*, como *C. limon* (L.) Burm., *C. paradisi* Macf., *C. reticulata* Blanco e *C. sinensis* (L.) Osbeck⁽³¹⁾.

Características encontradas em *C. medica*, como epiderme unisseriada revestida por cutícula delgada, mesofilo dorsiventral, cristais prismáticos e cavidades secretoras, foram descritas para outras espécies de Rutaceae, dentre elas: *Citrus limettioides* Tanaka⁽³²⁾, *Balfourodendron riedelianum* (Engl.) Engl., *Helietta apiculata* Benth., *Metrodorea maracasana* Kaastra, *Metrodorea nigra* A. St.-Hil., *Metrodorea stipularis* Mart., *Metrodorea mollis* Taubert e *Metrodorea flavida* Krause⁽³³⁾ e *Raulinoa echinata* R. S. Cowan⁽³⁴⁾.

As cavidades secretoras contendo óleos essenciais são consideradas sinapomorfia para a família Rutaceae^(35, 36). No pecíolo observaram-se cristais prismáticos no parênquima cortical e medular, assim como descrito para *C. sinensis* e *C. limon*, enquanto em *C. reticulata* eles foram observados apenas na região cortical⁽³¹⁾.

Observaram-se no pó das folhas feixes vasculares com espessamento em anel, cristais prismáticos e estômatos paracíticos. No pó das cascas dos frutos, grãos de amido e cristais prismáticos. Segundo Oliveira e Akisue⁽³⁷⁾, a presença de idioblastos contendo inclusões na forma de cristais prismáticos, drusas e areia cristalina constituem-se em detalhes importantes na identificação de drogas vegetais.

Os teores de umidade médios para as cascas dos frutos (6,22%) e para as folhas (8,17%) estão dentro dos recomendados pela Farmacopeia Brasileira IV⁽²⁵⁾ (entre 8 e 14%). De acordo com a literatura, a droga vegetal deve possuir o mínimo de

umidade para sua boa conservação⁽³⁸⁾. Recomenda-se que o teor máximo de umidade das drogas vegetais não seja superior a 14%, pois o excesso de umidade em matérias-primas vegetais permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação de constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias⁽³⁹⁾.

Verificou-se que os componentes majoritários do óleo essencial das folhas foram: E-cariofileno, limoneno e acetato de geranila; e das cascas dos frutos apenas o limoneno. O limoneno também foi encontrado como majoritário no óleo essencial das cascas dos frutos de *C. medicavar. cedrate* coletados no Irã (56,6%)⁽⁴⁰⁾. Entretanto, no óleo essencial das cascas dos frutos de *C. medica* coletadas em Bangladesh, identificaram-se como componentes majoritários o isolimoneno (39,37%), o citral (23,12%) e o limoneno (21,78%) e, no óleo essencial das folhas, o erucilamida (28,43%), o limoneno (18,36%) e o citral (12,95%)⁽⁶⁾. O limoneno também foi relatado como constituinte majoritário nas cascas dos frutos de outras espécies de Rutaceae, como em *Citrus maxima*(J. Burman) Merrill. (93,2%), coletada no Nordeste da Índia⁽⁴¹⁾; *Citrus sinensis* variedade *valenciana* (90-93%), coletada no norte de Santander, Colômbia⁽⁴²⁾; *Citrus reticulata* Blanco (92,4%), coletada em New Delhi, Índia⁽⁴³⁾; e *Citrus limettioides* (70 a 75%), coletada no Estado de Goiás, Brasil⁽³²⁾. Devido à constatação de alguns compostos químicos diferentes no óleo essencial de *C. medica* estudado em outros países, fazem-se necessários estudos da atividade medicinal com os espécimes coletados em Goiás.

O limoneno é o principal composto obtido dos óleos essenciais cítricos, sendo utilizado como monômero na fabricação de polímeros, solvente, na composição de produtos de limpeza, nas indústrias de perfumaria, cosmética, farmacêutica e de alimentos^(44, 45) e na agricultura como repelente ao ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch⁽⁴⁶⁾.

CONCLUSÃO

Verificaram-se cristais prismáticos tanto nas folhas como na casca dos frutos.

Como a matéria-prima vegetal é normalmente comercializada na forma de droga vegetal (rasurada ou em pó), os dados obtidos nesse trabalho podem contribuir para o controle farmacognóstico da *C. medica*.

Fazem-se necessários estudos anatômicos comparativos dentro do gênero *Citrus* para auxiliar no controle de qualidade da droga vegetal comercializada em pó ou razurada.

Os componentes majoritários identificados no óleo essencial das folhas foram E-cariofileno, limoneno e acetato de geranila e das cascas dos frutos o limoneno. Concluiu-se que o teor de limoneno varia dependendo da região de ocorrência, quando comparado com dados na literatura.

Os componentes majoritários do óleo essencial das folhas de *C. medica* coletadas em Goiás, exceto o limoneno, foram diferentes dos componentes majoritários do óleo essencial das folhas de *C. medica* relatadas na literatura em outras regiões.

REFERENCES

1. Stevens PF. Angiosperm Phylogeny Website. Available from: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>;2001.
2. Tassar H. Frutas Brasil frutas. 1 ed. São Paulo: Empresa das Artes; 2006.
3. India. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India. In: Ayush Do, editor. New Delhi: Ministry of Health and Family Welfare; 2001. p. 27-8.
4. Lorenzi H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 5 ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2008.

5. Fleisher A, Fleisher Z. Aromatic plants of the Holy Land and the Sinai. Part VI. The essential oils of errog (*Citrus medica* L.). J. Essent. Oil Res. 1991;3(5):377-9.
6. Bhuiyan MNI, J. B, Sardar PK, Rahman MS. Constituents of peel and leaf essential oils of *Citrus medica* L.. Journal Science Research. 2009;1:387-92.
7. Bhavamishra B. Shi Brahmasankara Mishra and Sri Rupalalaji Vaisya Varanasi: Chaukhambha Sanskrit Sansthan; 2004.
8. Kirtik KR, Basu BD. Indian medicinal plants. Dehra Dun, India: Bishen Singh Mahendra Pal Singh; 1993.
9. Enterazi M, Majd A, Falahian F, Mehrabian S, Hashemi M, Lajimil AA. Antimutagenicity and anticancer effects of *Citrus medica* fruit juice. Acta Med. Iran. 2009;47(5):373-7.
10. Negi SA, Juyal V, Melkani AB. Analgesic activity of fruit decoction of *Citrus medica* Linn. J. Pharmaceutical Res. 2010;3(9):2119-21.
11. Menichini F, Loizzo MR, Bonesi M, Conforti F, De Luca D, Statti GA, et al. Phytochemical profile, antioxidant, anti-inflammatory and hypoglycemic potential of hydroalcoholic extracts from *Citrus medica* L. cv Diamante flowers, leaves and fruits at two maturity stages. Food Chem. Toxicol. 2011;49(7):1549-55.
12. Nagaraju B, Sanand SC, Ahmed N, Chandra JNNS, Ahed F, Padmavathi GV. Antiulcer activity of aqueous extract of *Citrus medica* Linn. fruit against ethanol-induced ulcer in rats. Advances in Biological Research. 2012;6(1):24-9.
13. Mohammed AA, Mothana RA, Al-Said MS, El-Tahir KE, Al-Sohaibani M, Rafatullah S. *Citrus medica* "Otroj": Attenuates Oxidative Stress and Cardiac Dysrhythmia in Isoproterenol-Induced Cardiomyopathy in Rats. Nutrients. 2013;5:4269-83.
14. Sood S, Bansal S, Muthuraman A, Gill NS, Bali M. Therapeutic potential of *Citrus medica* L. peel extract in carrageenam induced inflammatory pain in rat. Res. J. Med. Plant. 2009;3:123-33.
15. Sah AN, Joshi A, Juyal V, Kumar T. Antidiabetic and hypolipidemic activity of *Citrus medica* Linn. seed extract in streptomycin incuded diabetic rats. Pharmacog. J. 2011;3(23):80-4.
16. Bairagi GB, Kabra AO, Mandale RJ. Anthelmintic activity of *Citrus medica* L. leaves in Indian adult earthworm. Int. J. Pharmacol. Res. 2011;3(2):664-7.
17. El-Alfy TS, Hetta MH, Yassin NZ, Rahman RFA, Kadry EM. Estrogenic activity of *Citrus medica* L. leaves growing in Egypt. J. App. Pharm. Sci. 2012;2(8):180-5.
18. Essien EP, Essien JP, Ita BN, Ebong GA. Physicochemical properties and fungi toxicity of the essential oil of *Citrus medica* L. against groundnut storage fungi. Turkish J. Bot.. 2008;32:161-4.
19. Patil SJ, Patil SB. Toxicity studies on hepatic, nephric and endocrine organs of *Citrus medica* seeds extract on of female albino mice. J. Global Pharma Technol. 2011;3:14-21.
20. Simões CMO, Spitzer V. Óleos voláteis. In: Simões CMO, Schenkel EP; Gosmann G, Mello JCP de, Mentz LA, Petrovick PR, editors. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5 ed. Porto Alegre:Editora da UFRGS/Editora da UFSC; 2004. p. 467-95.
21. Cunha AP. Farmacognosia e Fitoquímica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2005.
22. Bukastsch F. Bemerkungen zur doppelfärbung astrablausafranin. Mikrokosmos. 1972;61:255.
23. Johansen DA. Plant microtechnique. 1 ed. New York: McGraw-Hill Book; 1940.
24. Costa AF. Farmacognosia. ed., editor. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian; 2001.

25. Brasil. Farmacopeia Brasileira. 5. ed. São Paulo: Editora Atheneu; 2010.
26. Van Den Dool H, Kratz PD. Generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. J. Chromatogr. A. 1963;11:463–71.
27. Adams RP. Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Stream C, editor. Illinois, USA: Allured Publishing Corporation; 2007.
28. NIST. National Institute of Standards and Technology, Version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Data Base. Gaithersburg: U. S. Department of Commerce; 1998.
29. Yunes RA, Calixto JB. Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna. Chapecó: Argos; 2001.
30. Metcalfe CR, Chalk L. Anatomy of the dicotyledons. Oxford: University Press; 1957.
31. Ogundare CS, Saheed SA. Foliar epidermal characters and petiole anatomy of four species of *Citrus* L. (Rutaceae) from south-western Nigeria Bangladesh. J. Plant Taxon. 2012;19(1):25-31.
32. Lopes LTA, Paula JR, Tresvenzol LMF, Bara MTF, Sá S, Ferri PH, et al. Composição química e atividade antimicrobiana do óleo essencial e anatomia foliar e caulinar de *Citrus limettoides* Tanaka (Rutaceae). Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl. 2013;34(4):503-11.
33. Martins TP, Teixeira SP, Groppo M. Anatomia foliar comparada de *Metrodorea* A.St.-Hil. (Rutaceae). Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP; Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo; 2008.
34. Arioli T, Voltolini CH, Santos M. Morfoanatomia foliar da reófito *Raulinoa echinata* R.S. Cowan – Rutaceae. Acta Bot. Bras. 2012;22(2):723-32.
35. Cronquist A. An integrated system of classification of flowering plants. New York, USA: The New Botanical Garden; 1981.
36. Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. Plant Systematics. A phylogenetic approach. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. Publishers Sunderland; 1999.
37. Oliveira F, Akisue G, Akisue MK. Farmacognosia. São Paulo: Atheneu Editora; 1998.
38. Di Stasi LC. Plantas medicinais: arte e ciência. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista; 1996.
39. BRASIL. Farmacopeia Brasileira. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2000.
40. Monajemi R, Shahrbano O, Ali HRS, Ghanadi AR, Abas JD. Cytotoxic effects of essential oils of some iranian *Citrus* peels. Iran. J. Pharm. Res. 2005;3:183-7.
41. Bordoloi AK, Pathak MG, Sperkova J, Leclercq PA. olatile constituents of the fruit peel oil of *Citrus maxima* (J. Burman) Merrill. from Northeast India. J. Essent. Oil Res. 1999;11:629-32.
42. Rueda XY, Mancilla LL, Parada DYP. Estudio del aceite esencial de la cáscara de la naranja dulce (*Citrus sinensis*, Variedad Valenciana) cultivada en Labateca (Norte de Santander, Colombia). Revista de la Facultad Ciências Básicas. 2007;5(1):3-8.
43. Sultana HS, Mohammed A, Husain HS. Variation of the volatile constituents of fruit peels of *Citrus reticulata* Blanco by physical effects. Int. Res. J. Pharm. 2011;2:62-4.
44. Craveiro AA, Queiroz DC. Óleos essenciais e química fina. Química Nova. 1993;16(3):224-8.
45. Bizzo HR, Hovell AMC, Rezende CM. Óleos essenciais no Brasil: aspectos gerais, desenvolvimento e perspectivas. Química Nova. 2009;32:588-94.

46. Botelho PS, Moraes MMM, Neves IA, Neves RCS, Ribeiro NC, Born FS, et al. Composição química e ação repelente do óleo essencial da laranja lima (*Citrus aurantium* L.) sobre o ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch. Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão (Jepex); Recife; 2009.



FF

FACULDADE DE
FARMÁCIA