



Avaliação da Qualidade de Amostras de Plantas Medicinais Comercializadas no Brasil

Renato Pamplona Cardozo Costa¹, André Luis de Alcantara Guimarães¹, Ana Cláudia de Macêdo Vieira^{1,2*}

¹Laboratório de Farmacobotânica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

²Professor Adjunto da Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

RESUMO

Drogas vegetais constituem uma das matérias-primas utilizadas na fabricação de fitoterápicos, além de serem largamente utilizadas pela população como recurso terapêutico. O mercado de produtos derivados de matéria-prima vegetal, com isso, se tornou alvo de investimentos de empresas do setor farmacêutico. O presente trabalho objetivou verificar a qualidade de drogas vegetais comercializadas no mercado brasileiro, utilizando-se conjuntamente métodos de análise simples e de baixo custo. Para tanto, foram usadas amostras de “centela”, “chá verde” e “espinheira santa”, obtidas em estabelecimentos comerciais, sendo sua identidade e qualidade avaliadas por meio de análises anatômicas e microquímicas. O estudo anatômico demonstrou que as três amostras de centela continham *Centella asiatica*, estando algumas em mau estado de conservação. Os contaminantes desta amostra eram principalmente outras partes do corpo vegetativo de *C. asiatica*, além de folhas de Poaceae e de outras espécies vegetais. Duas amostras de chá verde foram identificadas como *Camellia sinensis* e apresentavam caules da mesma espécie como contaminantes. A terceira amostra de chá verde era constituída por *Ilex paraguariensis*, sendo que folhas de Bambusoideae (Poaceae) também foram encontradas. Uma das amostras de espinheira santa era constituída de *Sorocea bonplandii*. As demais continham folhas e fragmentos de caule de *Maytenus ilicifolia*. As três amostras de centela apresentaram saponinas triterpênicas. Todas as amostras de chá verde possuíam metilxantinas. Dessas, apenas aquelas constituídas por *C. sinensis* demonstraram a presença de flavonoides. As amostras de espinheira-santa apresentaram taninos condensados. Desse modo, as metodologias propostas forneceram resultados complementares que podem ser empregados no controle de qualidade de drogas vegetais.

Palavras chave: Plantas Medicinais. Controle de Qualidade, *Centella asiática*, *Camellia sinensis*, *Maytenus ilicifolia*.

Autor correspondente: Ana Cláudia de Macêdo Vieira, Departamento de Produtos Naturais e Alimentos - Faculdade de Farmácia - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Av. Carlos Chagas Filho, 373, CEP: 21.944-970, Rio de Janeiro (RJ), Brasil.
e-mail: acmvieira@pharma.ufrj.br

INTRODUÇÃO

O Brasil, com sua ampla biodiversidade, tem tradição no uso de derivados vegetais para o tratamento de enfermidades, sendo alternativa terapêutica no Sistema Único de Saúde (Brasil, 2000; Brasil, 2009). Isso ocorre, principalmente, por esses derivados possuírem preço 35 a 70% mais baixos do que medicamentos sintéticos e serem de mais fácil acesso à parte da população (Cañigueral et al., 2003; Ferro, 2006).

A normatização vigente estipula que o controle de qualidade aplicado às matérias-primas dos fitoterápicos, em especial às drogas vegetais, inclua a identificação macroscópica e microscópica, além da determinação do perfil cromatográfico (Brasil, 2010a; Brasil, 2010b). Paes-Leme (2008) demonstrou que a anatomia vegetal é de grande importância no controle de qualidade de plantas medicinais e drogas vegetais e consiste em um critério relevante ao tentar aplicar o conceito de “Boas Práticas de Fabricação” (Brasil, 2003). Porém, a análise microscópica, apesar de indispensável, pode ser insuficiente para a determinação da qualidade de matérias-primas de origem vegetal, sendo sua associação com testes químicos capaz de apresentar resultados mais conclusivos (WHO, 1998).

Dentre as plantas medicinais utilizadas, tanto popularmente quanto para a produção de medicamentos, podem ser destacadas “espinheira santa” (*Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek – Celastraceae), “centela” (*Centella asiatica* (L.) Urb. – Apiaceae) e “chá verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze – Theaceae). As três espécies citadas foram escolhidas para o presente trabalho por apresentarem uso amplamente consagrado (Ritter et al., 2002; Borba & Macedo, 2006; Giraldo & Hanazaki, 2010) e por serem encontradas facilmente em estabelecimentos comerciais.

Diante do panorama apresentado, os objetivos deste trabalho foram: (1) verificar a qualidade de drogas vegetais vendidas no comércio popular utilizando métodos de análise simples e de baixo custo; (2) propor pequenas alterações nas metodologias de análise microquímica

encontradas na literatura, a fim de torná-las mais rápidas e/ou mais eficientes.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram adquiridas, em estabelecimentos do Rio de Janeiro (RJ) e Taubaté (SP), três amostras comerciais, de diferentes fabricantes, de cada uma das espécies selecionadas para estudo. Tais amostras receberam as denominações conforme disposto na tabela 1.

TABELA 1 - Amostras utilizadas nas análises

Amostra	Denominação Recebida	Quantidade adquirida	Origem da Amostra	Data de aquisição	
Centela	Amostra 1	CN1	20 g	RJO	12/2011
	Amostra 2	CN2	20g	TAU	01/2012
	Amostra 3	CN3	30g	RJO	01/2012
Chá-Verde	Amostra 1	CH1	20g	RJO	12/2011
	Amostra 2	CH2	15g	RJO	12/2011
	Amostra 3	CH3	50g	TAU	01/2012
Espinheira-Santa	Amostra 1	ES1	20g	RJO	12/2011
	Amostra 2	ES2	20g	TAU	12/2011
	Amostra 3	ES3	20g	TAU	12/2011

RJO: Amostra adquirida no município do Rio de Janeiro (RJ); TAU: Amostra adquirida no município de Taubaté (SP).

Seleção das amostras

Para as análises microscópicas e microquímicas foram recolhidas de modo aleatório, após homogeneização, duas porções do conteúdo da embalagem equivalentes a, aproximadamente, 25% de seu conteúdo total, sendo o restante armazenado para eventuais contraprovas. Uma porção foi submetida à reidratação com solução de glicerina 33% em etanol 50% (Alice et al., 1995 modificado), enquanto a outra foi separada para a realização de testes para detecção dos compostos químicos de interesse.

Análise microscópica

Foram selecionadas, no material reidratado, amostras similares à descrição macroscópica da droga preconizada pela literatura. Os demais materiais presentes foram considerados “contaminantes”, dos quais foram selecionadas amostras macroscopicamente diferentes entre si.

Para análise das drogas vegetais e contaminantes, fragmentos de cada amostra foram seccionados transversalmente com auxílio de lâmina de barbear, diafanizadas pelo hipoclorito de sódio, neutralizadas com ácido acético 5% e coradas com Azul de Astra e Safranina (Kraus & Arduim, 1997). As análises anatômicas foram realizadas utilizando-se microscópio óptico “Nikon Eclipse 50i” com câmera “Moticam 2300” acoplada. As pranchas foram montadas em Microsoft Office PowerPoint® 2007.

Análise microquímica

Para análise microquímica foram selecionados um ou dois grupos de metabólitos secundários para serem

pesquisados em cada espécie estudada, de acordo com o grupo de metabólitos do(s) principal(ais) ativo(s).

Centela

Foi investigada a presença de saponinas com genina triterpênica.

A análise foi procedida de acordo com o método descrito na Farmacopeia Brasileira (2010a) para determinação do índice de espuma. Foi considerado resultado positivo a presença de, no mínimo, 1 cm de

espuma em um dos tubos de ensaio 15 minutos após a agitação.

Para a determinação da natureza da sapogenina, fez-se o uso de 30 mL da solução aquosa restante do teste anterior. Esta foi submetida aos procedimentos propostos por Matos (1997) com as seguintes alterações: a hidrólise foi realizada com 3 mL de HCl concentrado e aquecimento até fervura por 15 minutos; as geninas isoladas foram obtidas a partir de três partições (em funil de separação) feitas com 5 mL de CH₂Cl₂ cada, reunidas as frações orgânicas e submetidas a aquecimento em banho-maria até a redução do seu volume à metade. Realizou-se a reação de Lieberman-Bouchardt com a solução obtida.

Os testes controle para ambos os procedimentos foram realizados com folhas de *Ziziphus joazeiro* Mart. e folhas de *Nerium oleander* L. (Lorenzi & Matos, 2002; Rates & Bridi, 2007 in Simões et al., 2007) e os testes em branco com água destilada.

Chá verde

Foi investigada a presença de metilxantinas e flavonoides.

Para avaliar a presença de metilxantinas, seguiu-se o proposto por Costa (2000) utilizando 1,5 g da amostra rasurada. A extração foi realizada com duas porções de 20 mL de HCl 5% em ebulição e uma terceira porção de 10 mL da referida solução ácida. As partições para a obtenção das metilxantinas foram feitas com duas porções de 20 mL de clorofórmio-acetato de etila (35:15) cada e uma

terceira com 10 mL do mesmo solvente. A presença da referida classe de metabólitos foi determinada através da reação de murexida com a cisão oxidativa necessária feita, sob aquecimento, com KClO₃ 8% e HNO₃ 65%, sendo revelada com NH₄OH 30%.

Para investigar a presença de flavonoides e distinguir suas classes, utilizou-se 1 g do material rasurado. A extração foi realizada com 40 mL de etanol 70% com o sistema submetido a aquecimento até ebulição e, posteriormente, filtrado. Realizou-se a reação com AlCl₃ 5% em um papel de filtro embebido com a solução teste (Costa, 2000 modificado). Foram transferidas alíquotas de 5 mL dessa solução para 6 tubos de ensaio numerados. Os cinco primeiros foram submetidos às alterações de pH e temperatura propostos por Matos (1997) e no sexto realizada a reação de Cianidina (Costa, 2000).

O teste controle relativo à avaliação da presença de metilxantinas foi feito com sementes de *Coffea arabica* L. torradas e moídas (Costa, 2002) e o teste em branco com HCl 5%. Já o teste controle referente à avaliação de flavonoides foi realizado com capítulos de *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. (Lorenzi & Matos, 2002; Zuanazzi & Montanha, 2007 in Simões et al., 2007) e o teste em branco com etanol 70%.

Espinheira santa

Foi investigada a presença de taninos.

Para analisar o referido metabólito, utilizou-se 1,5 g do material rasurado. A extração foi realizada com 40 mL de água destilada com o sistema submetido a aquecimento até ebulição e, posteriormente, filtrado. Transferiu-se 5 mL da solução obtida para três tubos de ensaio numerados, sendo ao primeiro adicionadas 2 gotas de FeCl₃ 10% (Matos, 1997 modificado), ao segundo 2 gotas de acetato de chumbo 10% e, ao terceiro, acetato de chumbo e ácido acético (Costa, 2000).

Os testes controle foram feitos com folhas de *Psidium guajava* L. (Santos & Mello, 2007 in Simões, et al., 2007) e os testes em branco com água destilada.

RESULTADOS

Análise anatômica

Centela

A análise anatômica revelou que as três amostras continham folhas de *Centella asiatica* (Fig. 1A, 1B e 1C). Destacaram-se ductos localizados acima e abaixo da região vascular da nervura central (Fig. 1A) e, em CN2, tricomas tectores unicelulares em ambas as faces da epiderme (Fig. 1B). Parte do material contido em CN1 estava quebradiço e com odor desagradável, aparentando estar em mau estado de conservação. A análise anatômica revelou tecidos em degeneração em todas as lâminas observadas (Fig. 1D).

Algumas amostras de folhas de *C. asiatica* apresentaram diferentes morfologias, porém consistiam de diferentes regiões da nervura central, quando comparadas ao material padrão submetido ao mesmo procedimento.

Os contaminantes encontrados nas amostras consistiam, em sua maioria, em outros órgãos de *C. asiatica* e em folhas de outras espécies, algumas de Poaceae (Fig. 1E e 1F) e outras folhas (Fig. 1G) e estruturas caulinares (Fig. 1H e 1I) de origem não identificada.

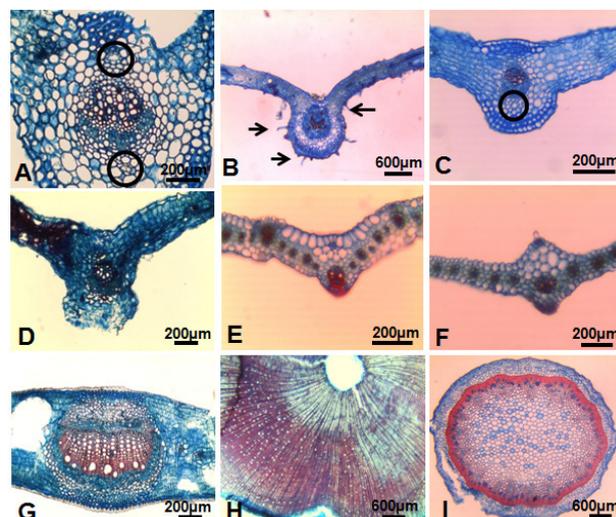


FIGURA 1: Padrões anatômicos, encontrados nas amostras de centela, em seção transversal: A- Detalhe da nervura central de folha de *C. asiatica* encontrada em CN1, destaque para ductos (círculos); B, C- Aspecto geral da nervura central das folhas de *Centella asiatica* encontradas em CN2 e CN3 respectivamente, destaque para tricomas tectores (setas), em B. Notar, em C, ducto abaixo da região vascular (círculo); D- Aspecto geral da nervura central de folha em mau estado de conservação encontrada em CN1; E, F- Aspecto geral da nervura central de folhas pertencentes à família Poaceae encontradas em CN2 e CN3 respectivamente; G- Aspecto geral da nervura central de folha de origem desconhecida encontrada em CN1; H, I- Aspecto geral de caules de origem desconhecida encontrados em CN2 e CN3 respectivamente.

Chá verde

A análise anatômica revelou que as amostras CH1 e CH2 continham *Camellia sinensis*, com destaque para abundantes esclereídes e idioblastos drusíferos localizados principalmente na nervura central (Fig. 2A e 2B).

Os contaminantes presentes nas amostras citadas consistiam em caules de *C. sinensis* (Fig. 2D, 2E e 2G). Notaram-se tricomas unicelulares na epiderme de alguns fragmentos em CH2 e idioblastos drusíferos observados no córtex dos fragmentos que não apresentavam tricomas em sua epiderme.

Todas as folhas contidas na amostra CH3 eram largas e coriáceas, incompatíveis com o padrão macroscópico de *C. sinensis*. A análise anatômica (Fig. 2C) revelou tratar de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. (Aquifoliaceae), destacando-se elementos importantes para reconhecimento da espécie, tais como bainha esclerenquimática envolvendo toda a região vascular da nervura mediana, lâmina foliar

com mesofilo em organização dorsiventral composto por duas a três camadas de parênquima paliçádico e cerca de dez camadas de parênquima esponjoso com diversos idioblastos drusíferos.

Os contaminantes em CH3 consistiam principalmente de caules de *Ilex paraguariensis* (Fig 2F), ligada a folhas anatomicamente compatíveis com às da espécie. Também foram encontradas folhas (Fig. 2I) de espécies de Poaceae.

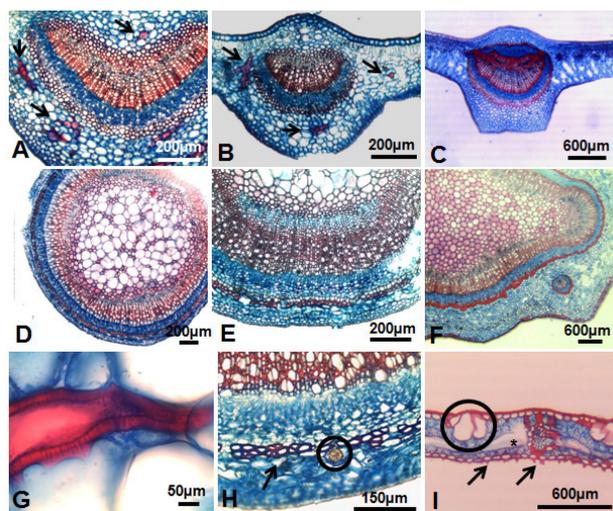


FIGURA 2: Padrões anômicos, encontrados nas amostras de chá verde, em seção transversal: A- Detalhe da nervura central de folha de *Camellia sinensis* encontrada em CH1, destaque para esclereídes (setas); B- Aspecto geral da nervura central de folha de *C. sinensis* encontrada em CH2, notar esclereídes dispersos nos parênquimas fundamental e esponjoso (setas); C- Aspecto geral da nervura central da folha de *Ilex paraguariensis* encontrado em CH3; D, E- Aspecto geral dos caules de *Camellia sinensis* encontrados em CH1 e CH2 respectivamente; F- Aspecto geral do caule de *Ilex paraguariensis* encontrado em CH3; G- Esclereíde vista na medula do caule de *C. sinensis* encontrado em CH1; H- Região cortical de caule de *C. sinensis* encontrado em CH2, destaque para bainha esclerenquimática (seta) e idioblasto drusífero (círculo); I- Aspecto geral da lâmina foliar de folha pertencente à subfamília Baumusoideae (Poaceae) encontrada em CH3, notar para grupo de células buliformes (círculo), célula fusóide (*) e tricomas tectores (setas).

Espinheira santa

A amostra ES1 continha folhas (Fig. 3A) de *Sorocea bonplandii* (Baill.) W.C.Burger, Lanj. & de Boer (Moraceae), com ênfase para o formato plano-convexo da nervura central e floema contendo laticíferos.

ES2 e ES3 continham folhas de *Maytenus ilicifolia*, com destaque para a região vascular da nervura central em arco aberto, envolta por espessa bainha esclerenquimática (Fig. 3B, 3C). A região da lâmina foliar se encontrava com mesofilo em organização dorsiventral contendo duas a três camadas de parênquima paliçádico e seis a dez camadas de

parênquima esponjoso (Fig. 3E).

Os contaminantes encontrados em ES1 consistiam em caules de *Sorocea bonplandii* (Fig. 3D e 3G), ligados a folhas anatomicamente compatíveis às dessa espécie, e os encontrados em ES2 e ES3 eram caules de *M. ilicifolia* (Fig. 3F, 3H e 3I).

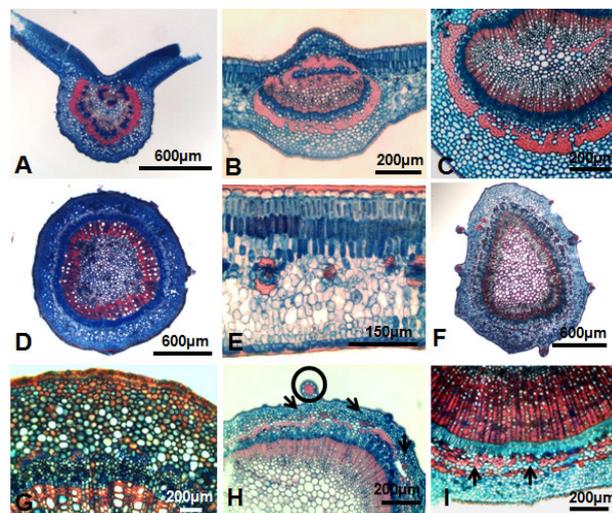


FIGURA 3: Padrões anômicos, encontrados nas amostras de espinheira santa, em seção transversal: A- Aspecto geral da nervura central da folha de *Sorocea bonplandii* encontrada em ES1; B- Aspecto geral da nervura central de folha de *Maytenus ilicifolia* encontrada em ES2; C- Detalhe da nervura central de folha de *M. ilicifolia* encontrada em ES3; D- Aspecto geral de um caule de *S. bonplandii* encontrado em ES1; E- Aspecto geral da lâmina foliar de *M. ilicifolia* encontrada em ES2, mostrando a organização dorsiventral do mesofilo; G- Detalhe da região cortical de caule de *S. bomplandii* encontrado em ES1; F, H- Aspecto geral de caules de *M. ilicifolia* encontrados em ES3 e ES2 respectivamente, destaque, em H, para projeção com cordão de esclerenquima (círculo), e esclereídes em ambas as imagens (setas); I- Detalhe da região cortical de um caule de *Maytenus ilicifolia* encontrado em ES3, destaque para esclereídes (setas).

Testes microquímicos

Os resultados dos testes microquímicos que indicam a presença ou ausência das classes de metabólitos estão resumidos na Tabela 2. Todas as amostras analisadas resultaram em positivo para as classes de metabólitos selecionadas anteriormente, exceto CH3 que obteve resultado negativo para a presença de todas as classes de flavonoides testadas, sendo os resultados obtidos nos testes para distinção das principais classes de flavonoides realizados nas demais amostras de chá verde indicaram positivo para “Flavonas, Flavonois e Xantonas” e “Flavanonas” em CH1 e CH2. A amostra CH2 também resultou positiva para “Flavanonois”.

DISCUSSÃO

O mercado de produtos derivados de matéria-prima vegetal cresce anualmente, tornando-se alvo de investimentos de empresas farmacêuticas, principalmente das regiões sul e sudeste do Brasil (Carvalho et al., 2008). Tal situação cria uma demanda crescente de métodos eficientes para o controle de qualidade de seus insumos. Visto isso, a determinação da identidade e qualidade da matéria-prima vegetal pode ser considerada uma primeira etapa para garantir a qualidade do produto final.

Análise anatômica

Centela

Folhas de *Centella asiatica* encontradas estavam de acordo com o padrão descrito na Farmacopeia Brasileira (2010b) e por Upton et al. (2011), sendo que os ductos relatados constituem um caráter relevante para a identificação da espécie por serem abundantes e facilmente visualizáveis. Em contrapartida, os tricomas totores encontrados em CN2 e relatados na Farmacopeia Brasileira (2010b) não devem ser critério determinante para avaliar a identidade de uma amostra de centela, já que podem estar ausentes em amostras autênticas como observado em CN1 e CN3. Upton et al. (2011) destacam idioblastos cristalíferos no mesofilo, característica que apenas não foi observada na amostra CN1.

Drogas vegetais são muito suscetíveis à degradação, que na maioria das vezes se deve à contaminação fúngica, podendo ocorrer devido à coleta, processamento e armazenamento inapropriados (Rocha et al. 2004). Além disso, *C. asiatica* cresce preferencialmente em locais com solo úmido (Lorenzi, 2000) e, se a umidade residual não for retirada adequadamente, pode favorecer a proliferação de fungos e ácaros durante seu armazenamento (Sousa et al., 2005). Isso pode ser uma das explicações para o mau estado de conservação encontrado em parte de CN1.

As folhas de Poaceae identificadas como contaminantes apresentavam elementos tipicamente encontrados no grupo, tais como lâmina foliar com mesofilo apresentando organização homogênea, presença de grupos de células buliformes na epiderme e tecido esclerenquimático bem desenvolvido adjacente à epiderme, aos feixes vasculares ou ao bordo das folhas (Esau, 1977). Devido à ocorrência de *C. asiatica* em locais diferentes e ao seu hábito rasteiro (Lorenzi, 2000; Lorenzi & Matos, 2002), uma coleta baseada em extrativismo provavelmente foi um dos fatores responsáveis pela variedade de contaminantes encontrados. Martins & Figueiredo (2009 in Leite, 2009) relatam que grande parte da obtenção de plantas medicinais é baseada em extrativismo, o que pode ocasionar a coleta de espécies erradas, ou mesmo com maior índice de contaminantes se comparada à colheita de plantas cultivadas.

Chá verde

As folhas de *Camellia sinensis* encontradas em CH1 e CH2 são compatíveis com o padrão descrito por Duarte & Menarim (2006). Os autores destacam em *C. sinensis* esclereídes e idioblastos drusíferos também visualizados nas amostras citadas, desse modo foram considerados critérios relevantes para a caracterização de folhas dessa espécie. Os tricomas totores não foram encontrados em CH1. Tal ausência, se derivada se abscisão, pode ser oriunda do tempo e forma de armazenagem a que foi submetida. Isso poderia ser confirmado através da análise de seções paradérmicas, que fogem do escopo do presente trabalho.

Os caules de *C. sinensis* encontrados estavam de acordo com o padrão descrito por Duarte & Menarim (2006), exceto pelos idioblastos drusíferos encontrados que não foram relatados pelos autores. O mesmo trabalho relata a presença de tricomas na epiderme dos caules, que foram encontrados, no presente trabalho, em fragmentos que não possuíam drusas. Tais caracteres podem indicar diferenças

TABELA 2 - Resultados obtidos nos testes microquímicos nas análises das amostras vegetais

	Saponina		Sapogenina Triterpênica		Flavonoides						Metilxantinas		Taninos		
			Antocianinas e Antocianidinas	Flavonas, Flavonois e Xantonas	Chalconas e Auronas	Flavanonois	Leucoantocianidinas	Catequinas	Flavanonas	Reação de Cianidina			FeCl ₃	Acetato de Chumbo	Acetato de Chumbo e ácido acético
CN1	+	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CN2	+	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CN3	+	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
CH1	NR	NR	-	+	-	-	-	-	+	+	+	NR	NR	NR	NR
CH2	NR	NR	-	+	-	+	-	-	+	+	+	NR	NR	NR	NR
CH3	NR	NR	-	-	-	-	-	-	-	-	+	NR	NR	NR	NR
ES1	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	-	-
ES2	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	-	-
ES3	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	+	+	-	-

“+” representa resultado positivo para a presença do metabólito em questão, enquanto “-” indica resultado negativo. “NR” significa que o teste para a detecção da classe de metabólitos não foi realizado. Obs: a cor desenvolvida na reação com FeCl₃ foi “verde escuro” nas três amostras analisadas.

anatômicas entre caules de *C. sinensis* em diferentes estágios de desenvolvimento.

As folhas de *Ilex paraguariensis* encontradas em CH3 estavam de acordo com o descrito por Amat (1991), sendo os caracteres relatados no presente trabalho relevantes por serem suficientes para distinguir *I. paraguariensis* da espécie preconizada como “chá verde” (*Camellia sinensis*).

Apesar de a troca de espécies não ser prejudicial à saúde neste caso, já que as folhas de *I. paraguariensis* são usadas no preparo de bebidas como o mate e o chimarrão (Lorenzi & Matos, 2002), a substituição da matéria-prima por outra espécie configura uma falsificação do produto vendido, sendo crime previsto pelos artigos 175 e 275 do Código Penal Brasileiro (Brasil, 1940; Brasil, 1998). Além disso, tal substituição revela ausência de cuidados no controle de qualidade, desde a identificação da espécie da matéria-prima. Portanto, análises macroscópicas e anatômicas seriam boas alternativas, por sua praticidade e baixo custo, para o controle de qualidade, revelando facilmente a troca de espécies.

As folhas de Poaceae encontradas como contaminantes em CH3 possuíam as características típicas da família comentadas anteriormente (Esau, 1977), além de outros caracteres descritos por Vieira et al. (2002) e De-Oliveira et al. (2008) como marcantes para a subfamília Bambusoideae. Espécies deste grupo podem ocorrer no interior de florestas (Souza & Lorenzi, 2005), onde *I. paraguariensis* é abundante (Lorenzi & Matos, 2002), sugerindo que essa amostra seja oriunda de extrativismo, conforme discutido anteriormente.

Espinheira santa

As amostras ES2 e ES3 continham folhas conforme o padrão de *M. ilicifolia* (Machado & Santos, 2004; Farm. Bras., 2010b). Os caracteres anatômicos encontrados, com destaque para a anatomia do mesofilo, constituem um importante critério para identificação de amostras de *M. ilicifolia*, pois as plantas comumente usadas para falsificá-la apresentam anatomias distintas. Já os caules de *M. ilicifolia* encontrados em ambas as amostras apresentaram caracteres semelhantes ao descrito por Duarte & Debur (2005).

As folhas de *Sorocea bonplandii* encontradas em ES1 estavam de acordo com o padrão descrito por Machado & Santos (2004), sendo as características destacadas no presente trabalho relevantes, visto que são suficientes para distinguir *S. bonplandii* da espécie preconizada como “Espinheira santa” (*Maytenus ilicifolia*).

Testes microquímicos

Centela

Matos (1997) descreve que a reação de Lieberman-Bouchardt resulta positiva para esteroides quando desenvolvida coloração azulada e para triterpenos coloração avermelhada. Essa afirmação foi refutada pelos resultados obtidos nos testes controles realizados. Portanto, foi considerado resultado positivo para geninas triterpênicas, a coloração azulada obtida na citada reação.

Visto isso, a análise microquímica revelou a presença de saponinas com genina triterpênicica nas três amostras. Tal resultado era esperado já que a presença de compostos glicosilados de núcleo triterpênicico nas folhas de *Centella asiatica*, notadamente os formados por ácido asiático e ácido medecássico, é citada por vários autores, que reputam a tais compostos as ações farmacológicas descritas para a espécie (Shukla et al., 1999; Huang et al., 2011; James & Dubery, 2011).

Evans (2008) descreve a presença de saponinas triterpênicas em outras partes do corpo vegetativo de *C. asiatica*. Por isso os resultados obtidos na microquímica não devem ser usados como único critério para avaliar a identidade e qualidade de uma amostra de centela, visto que, se a amostra não contiver apenas folhas, poderá ser obtido um resultado falso-positivo.

Chá verde

A análise microquímica revelou a presença de metilxantinas nas três amostras. CH1 e CH2 consistiam de *Camellia sinensis*, espécie com diversos registros de cafeína em suas folhas (Saito et al., 2006; Evans, 2008; Nishiyama et al., 2010). Já CH3 continha *Ilex paraguariensis*, que também apresenta cafeína (Schubert et al., 2006; Streit et al., 2007; Pagliosa et al., 2010).

Apesar dos resultados estarem dentro do esperado nas três amostras, a presença de metilxantinas não deve ser usada como único parâmetro para a avaliação de identidade e qualidade de amostras de chá verde, visto que duas espécies distintas indicaram positivo para o mesmo teste. Metilxantinas ocorrem em diversas famílias botânicas (Costa, 2002), portanto, na maioria dos casos, não devem ser considerados bons marcadores químicos para, sozinhos, atestarem a qualidade de uma droga vegetal.

Os testes com AlCl₃ em CH1 e CH2 indicaram flavonoides, conforme descrito para *C. sinensis* (Zuanazzi & Montanha, 2007 in Simões et al., 2007; Evans, 2008).

CH3 (*I. paraguariensis*) resultou negativo para a presença de flavonoides (Tabela 2). Há registros de polifenóis com atividade antioxidante em suas folhas (Streit et al., 2007; Pagliosa et al., 2010), porém poucos da classe dos flavonoides. Anesini et al. (2012) relatam o flavonoide rutina nas folhas de *I. paraguariensis* em baixa concentração, podendo diminuir ainda mais, dependendo das condições de coleta, processamento e armazenagem. Desse modo, o teste proposto para a presença de flavonoides seria uma alternativa viável para identificação de eventuais substituições de *C. sinensis* por *I. paraguariensis*.

CH1 e CH2 (*Camellia sinensis*) indicaram positivo para “Flavonas, Flavonois e Xantonas”, encontrados no chá verde (Lakenbrink et al., 2000; Nishiyama et al., 2010; Saito et al., 2006). Os mesmos autores registram, no chá verde, moléculas da classe das “catequinas” como catequina, epigalocatequina, epigalocatequina galato, entre outras. Entretanto, Matos (1997) denomina como “catequina” os taninos condensados. Tal classificação foi usada como parâmetro para avaliação dos resultados. Assim, CH1 e

CH2 apresentaram resultados dentro do esperado. CH2 também indicou a presença de flavanonois, contrariando o preconizado para o chá verde. Adicionalmente, o extrato adquiriu cor marrom, diferente do verde esperado, sendo semelhante ao descrito por Lorenzi e Matos (2002) para o chá preto. Durante a fermentação para elaboração do chá preto, ocorrem hidrólises e condensações, alterando seu conteúdo polifenólico, o que pode ter contribuído para o resultado encontrado. Assim, esse teste pode servir de parâmetro para identificar possíveis alterações no chá verde, já que diferentes tratamentos nas folhas de *C. sinensis* podem alterar seus resultados. CH3 não indicou positivo para nenhuma das classes de flavonoides, corroborando o resultado negativo do teste com AlCl₃.

A reação de Cianidina resultou em positivo para CH1 e CH2. CH3 apresentou resultado negativo, confirmando os resultados dos testes anteriormente descritos (Tabela 2).

O resultado menos intenso de CH2 do que CH1 pode ter sido causado pela alteração do conteúdo de polifenóis provocada pela fermentação já citada (Lorenzi & Matos, 2002). Tal processo pode ter diminuído a concentração dos flavonoides pertencentes às classes sensíveis ao teste, provocando o resultado encontrado. Dessa forma, o teste proposto também pode servir de parâmetro relevante para identificar possíveis alterações em amostras de chá verde, uma vez que tanto os diferentes processamentos nas folhas de *C. sinensis* quanto sua substituição por *I. paraguariensis* seriam detectados.

Espinheira santa

O resultado positivo para o FeCl₃ pode ser indicativo de taninos hidrolisáveis, caso apresente coloração azul, ou condensados, caso apresente coloração verde (Matos, 1997). Costa (2000) diz que a adição do ácido acético evita a precipitação dos taninos condensados na presença do acetato de chumbo. Portanto, foi considerado positivo para taninos condensados presença de precipitado no tubo apenas com o acetato de chumbo e ausência no tubo com o ácido acético adicionado.

Tendo isso em vista, ES1 resultou positivo para taninos condensados (Tabela 2), não esperados para *Sorocea bonplandii* (Alice et al., 1995), espécie a que pertencem as folhas contidas nessa amostra.

O mesmo resultado foi encontrado para ES2 e ES3, confirmando os registros dessa classe de taninos nas folhas de *Maytenus ilicifolia* (Mossi et al., 2009; Pessuto et al., 2009; Farm. Bras., 2010b), espécie a que pertencem as citadas amostras conforme descrito anteriormente. Determinar a presença de taninos condensados em uma amostra de espinheira santa pode fornecer subsídios para atestar sua qualidade, aliados a análises anatômicas. O fato de *S. bonplandii*, uma das espécies mais usadas como falsificação de *M. ilicifolia* (Gonzalez et al., 2001; Machado & Santos, 2004), poder também indicar positivo para o mesmo grupo de metabólitos ratifica a importância de se aliar as análises anatômica e microquímica propostas.

Diante do exposto, e tendo em vista que todos os testes “controle” e “em branco” apresentaram resultados dentro do esperado, pode-se concluir que confrontar os resultados das análises anatômicas e microquímicas é capaz de aferir, com bom nível de confiabilidade, a identidade e a qualidade de drogas vegetais em uma análise de baixo custo financeiro. Em contrapartida, a avaliação apenas da análise anatômica ou microquímica se mostrou propensa a resultados enganosos, visto que amostras pertencentes à mesma espécie podem desenvolver resultados diferentes nos ensaios microquímicos.

Além disso, amostras com resultados idênticos nos testes microquímicos podem pertencer a espécies botânicas diferentes, o que torna a associação das técnicas propostas uma etapa importante para a aplicação do conceito de Boas Práticas de Fabricação para produtos que utilizem drogas vegetais como insumo. Diante do exposto, os resultados obtidos seriam suficientes para considerar como “reprovadas” todas as amostras em uma análise de controle de qualidade, sem a necessidade de utilizar métodos mais refinados e, conseqüentemente, de maior custo.

ABSTRACT

Quality Assessment of Samples of Medicinal Plants Marketed in Brazil

Apart from constituting the raw material used to manufacture phytomedicines, plant drugs are commonly used by people as a therapeutic resource. Thus, the market in plant natural products has become an attractive target for investments of pharmaceutical companies. The aim of this study was to test the quality of commercial plant drugs in Brazil, employing simple and low-cost methods. Anatomical and microchemical tests were performed on commercial samples of “centela” (Asian pennywort or centella), “chá verde” (green tea) and “espinheira santa”, to assess their quality and check their identity. The anatomical study revealed that all 3 samples of centella consisted of *Centella asiatica* leaves, but some were poorly conserved. The majority of contaminants consisted of other parts of *C. asiatica*, leaves of Poaceae and other species, and unidentified stalks. Two samples of green tea revealed leaves of the correct species (*Camellia sinensis*), with twigs of the same as contaminants, while the third consisted mainly of *Ilex paraguariensis* (mate tea) with some Bambusoideae (Poaceae) leaves. One of the 3 samples of “espinheira santa” contained *Sorocea bonplandii* leaves (cincho), and the others revealed leaves and stem fragments of *Maytenus ilicifolia*. The 3 samples of centella showed triterpene saponins. All samples of “green tea” revealed methylxanthines, but only those with *C. sinensis* had flavonoids. The samples of “espinheira santa” showed condensed tannins. Thus, the proposed analytical methods provided complementary results, which may be applied to quality control of plant drugs.

Keywords: Medicinal Plants. Quality Control, *Centella asiatica*. *Camellia sinensis*. *Maytenus ilicifolia*.

REFERÊNCIAS

- Alice CB, Siqueira NCS, Mentz LA, Silva GAAB, José KF. Plantas medicinais de uso popular: atlas farmacognóstico. Canoas (RS): Ulbra; 1995.
- Amat AG. Caracteres Histofoliare Diferenciales de *Ilex paraguariensis* St. Hil.(“ yerba mate”) y su Adulterante Mangifera indica L.(“ mango”). Acta Farm Bonaer. 1991;10(1):9–13.
- Anesini C, Turner S, Cogoi L, Filip R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of mate (*Ilex paraguariensis*). Lwt - Food Sci Technol. 2012;45(2):299–304.
- Borba AM, Macedo M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. Acta Bot Bras. 2006;20(4):771–82.
- Brasil. Código Penal Brasileiro, Artigo 175. Poder Executivo, Brasília (DF); 1940.
- Brasil. Código Penal Brasileiro, Artigo 275. Texto original, 1940. Alterado pela Lei nº 9.695/98. Poder Executivo, Brasília (DF); 1998.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de diretoria colegiada nº 17 de 24 de fevereiro de 2000. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, nº 40E, 25 de fevereiro de 2000. Seção 1, p25-6.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 210, de 04 de agosto de 2003. Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, nº 156, 14 de agosto de 2003. Seção 1, p24-50.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de ciência, tecnologia e insumos estratégicos. Departamento de Assistência farmacêutica e insumos estratégicos. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Poder executivo, Brasília (DF); 2009.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de diretoria colegiada nº 10 de 9 de março de 2010. Dispõe sobre a notificação de drogas vegetais junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e dá outras providências. Diário Oficial da União. nº 46, 10 de março de 2010a. Seção 1, p 52-9.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de diretoria colegiada nº 14 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, nº 63, 05 de abril de 2010b. Seção 1, p 85-7.
- Canigueral S, Dellacassa E, Bandoni AL. Plantas Medicinales y Fitoterapia: ¿indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta Farm Bonaer. 2003;22(3):265–79.
- Carvalho ACB, Balbino EE, Maciel A, Perfeito JPS. Situação do registro de medicamentos fitoterápicos no Brasil. Rev Bras Farm. 2008;18(2):314–9.
- Costa AF. Farmacognosia. 3ª edição. Lisboa (PT): Fundação Calouste Gulbenkian; 2000. v.3.
- Costa AF. Farmacognosia. 6ª edição. Lisboa (PT): Fundação Calouste Gulbenkian; 2002. v.2.
- De Oliveira RP, Longhi-Wagner HM, Batista Leite KR. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia Bertol.* (Poaceae: Bambusoideae). Acta Bot Bras. 2008;22(1):1-19.
- Duarte MR, Debur MC. Stem and leaf morphoanatomy of *Maytenus ilicifolia*. Fitoterapia. 2005;76(1):41–9.
- Duarte MR, Menarim DO. Morfodiagnose da anatomia foliar e caulinar de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, Theaceae. Rev Bras Farm. 2006;16:545–51.
- Esau K. Anatomy of seed plants. 2nd. ed. New York: Malloy Lithographing; 1977.
- Evans WC. Trease and Evans pharmacognosy. 15th. ed. London: Saunders Company; 2008.
- Farmacopeia brasileira. 5ª ed. Brasília: Ed. FioCruz; 2010a. v.1.
- Farmacopeia brasileira. 5ª ed. Brasília: Ed. FioCruz; 2010b. v.2.
- Ferro D. Fitoterapia: conceitos clínicos. São Paulo (SP): Atheneu; 2006.
- Giraldi M, Hanazaki N. Uso e conhecimento tradicional de plantas medicinais no Sertão do Ribeirão, Florianópolis, SC, Brasil. Acta Bot Bras. 2010;24(2):395–406.
- Gonzalez FG, Portela TY, Stipp EJ, Di Stasi LC. Antiulcerogenic and analgesic effects of *Maytenus aquifolium*, *Sorocea bomplandii* and *Zolernia ilicifolia*. J Ethnopharmacol. 2001;77(1):41–7.
- Huang SS, Chiu CS, Chen HJ, Hou WC, Sheu MJ, Lin YC, et al. Antinociceptive Activities and the Mechanisms of Anti-Inflammation of Asiatic Acid in Mice. Evid-Based Complement Alternat Med. [Internet]. 2011; Article ID 895857, 10 p. [cited 2012 Jun 24]; 2011. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/ecam/2011/895857/>.
- James J, Dubery I. Identification and quantification of triterpenoid centelloids in *Centella asiatica* (L.) Urban by densitometric TLC. Jpc - J Planar Chromatogr Mod Tlc. 2011;24(1):82–7.
- Kraus JE, Arduim M. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. Seropédica (RJ): EDUR; 1997.
- Lakenbrink C, Lapczynski S, Maiwald B, Engelhardt UH. Flavonoids and Other Polyphenols in Consumer Brews of Tea and Other Caffeinated Beverages. J Agric Food Chem. 2000;48(7):2848–52.

- Lorenzi, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, parasitas e tóxicas. 3ª ed. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum; 2000.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum; 2002.
- Machado AV, Santos M. Morfo-anatomia foliar comparativa de espécies conhecidas como espinheira-santa: *Maytenus ilicifolia* (Celastraceae), *Sorocea bonplandii* (Moraceae) e *Zollernia ilicifolia* (Leguminosae). *Insula Rev Bot.* 2004;33:1-19.
- Martins ER, Figueiredo LS. Cultivo de plantas medicinais In: Leite JPV. Fitoterapia: bases científicas e tecnológicas. São Paulo (SP): Atheneu; 2009. p. 143-67.
- Matos FJA. Introdução à fitoquímica experimental. 2ª ed. Fortaleza (CE): UFC; 1997.
- Mossi AJ, Mazutti M, Paroul N, Corazza ML, Dariva C, Cansian RL, et al. Chemical variation of tannins and triterpenes in Brazilian populations of *Maytenus ilicifolia* Mart. *Ex Reiss. Braz J Biol.* 2009;69(2):339-45.
- Nishiyama MF, Costa MAF, Costa AM, Souza CGM, Bôer CG, Bracht CK, et al. Chá verde brasileiro (*Camellia sinensis* var *assamica*): efeitos do tempo de infusão, acondicionamento da erva e forma de preparo sobre a eficiência de extração dos bioativos e sobre a estabilidade da bebida. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2010;30(Supl 1):191-6.
- Paes-Leme ACV. A Importância da Microscopia no Controle de Qualidade de Drogas de Origem Vegetal. [Monografia]. Rio de Janeiro (RJ): Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro; 2008.
- Pagliosa CM, Vieira MA, Podestá R, Maraschin M, Zeni ALB, Amante ER, et al. Methylxanthines, phenolic composition, and antioxidant activity of bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.). *Food Chem.* 2010;122(1):173-8.
- Pessuto MB, Costa IC, Souza AB, Nicoli FM, Mello JCP, Petereit F, et al. Antioxidant activity of extracts and condensed tannins from leaves of *Maytenus ilicifolia* Mart. *ex Reiss. Quím Nova.* 2009;32(2):412-6.
- Rates SMK, Bridi R. Heterosídeos Cardioativos In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentsz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Florianópolis (SC): UFSC; 2007. p. 687-710.
- Ritter MR, Sobierajski GR, Schenkel EP, Mentz LA. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. *Rev Bras Farm.* 2002;12(2):51-62.
- Rocha LO, Soares MMSR, Corrêa CL. Análise da contaminação fúngica em amostras de *Cassia acutifolia* Delile (sene) e *Peumus boldus* (Molina) Lyons (boldo-do-Chile) comercializadas na cidade de Campinas, Brasil. *Rev Bras Ciênc Farm.* 2004;40(4):521-7.
- Saito ST, Welzel A, Suyenaga ES, Bueno F. A method for fast determination of epigallocatechin gallate (EGCG), epicatechin (EC), catechin (C) and caffeine (CAF) in green tea using HPLC. *Ciênc Tecnol Aliment.* 2006;26(2):394-400.
- Santos SC, Mello JCP. Taninos In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentsz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Florianópolis (SC): UFSC; 2007. p. 615-56.
- Schubert A, Zanin FF, Pereira DF, Athayde ML. Variação anual de metilxantinas totais em amostras de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.(erva-mate) em Ijuí e Santa Maria, Estado do Rio Grande do Sul. *Quim Nova.* 2006;29(6):1233-6.
- Shukla A, Rasik AM, Jain GK, Shankar R, Kulshrestha DK, Dhawan BN. In vitro and in vivo wound healing activity of asiaticoside isolated from *Centella asiatica*. *J Ethnopharmacol.* 1999;65(1):1-11.
- Sousa JM, Gondim Jr MGC, Barros R, Oliveira JV. Mites in stored foods commercialized in supermarkets and markets in Recife. *Neotrop Entomol.* 2005;34(2):303-9.
- Souza VC, Lorenzi H. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa (SP): Instituto Plantarum; 2005.
- Streit NM, Hecktheuer LHR, do Canto MW, Mallmann CA, Streck L, Parodi TV, et al. Relation among taste-related compounds (phenolics and caffeine) and sensory profile of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Chem.* 2007;102(3):560-4.
- Upton R, Graff A, Jolliffe G, Länger R, Williamson E. American Herbal Pharmacopoeia: Botanical Pharmacognosy Microscopic Characterization of Botanical Medicines. New York: Taylor and Francis Group; 2011.
- Vieira RC, Gomes DMS, Sarahyba LS, Arruda RCO. Leaf anatomy of three herbaceous bamboo species. *Braz J Biol.* 2002;62(4B):907-22.
- World Health Organization. Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva; 1998.
- Zuanazzi JAS, Montanha JA. Flavonoides In: Simões CMO, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JCP, Mentsz LA, Petrovick PR. Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6ª ed. Florianópolis (SC): UFSC; 2007. p.577-614.

Recebido em 3 de junho de 2013

Aceito em 27 de setembro de 2013

