



Análise e monitoramento da qualidade de produtos farmacêuticos contendo *Hypericum perforatum* L. comercializados em Divinópolis, Minas Gerais, Brasil

Rinaldo Eduardo Machado de Oliveira^{1*}; Mairon César Coimbra¹; João Máximo de Siqueira¹

¹Laboratório de Farmacognosia e Química de Produtos Naturais – Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

O crescente comércio de plantas medicinais e fitoterápicos ocorre em todo o mundo em razão de diversos fatores, como o alto custo dos medicamentos industrializados ou modismo. Neste trabalho verificou-se a qualidade de produtos farmacêuticos contendo *Hypericum perforatum* L. comercializados em Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. Adquiriram-se amostras de *H. perforatum* em três estabelecimentos distintos em diferentes épocas ao longo de um ano. Avaliaram-se os seguintes itens: aspectos farmacobotânicos, umidade, cinzas totais, doseamento de hipericina e cromatografia em camada delgada. Os resultados demonstraram que quatro amostras comercializadas como *H. perforatum* eram produtos diferentes daqueles anunciados, caracterizando uma falsificação e substituição da espécie verdadeira por *Ageratum* sp. Além disso, as amostras não cumpriram totalmente os requisitos exigidos pela legislação. Portanto, faz-se necessário reforçar a vigilância farmacêutica, buscando garantir produtos de qualidade adequados ao uso da população. *Palavras-chave:* *Hypericum perforatum*. Controle de qualidade. Plantas medicinais. Comércio. Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

INTRODUÇÃO

O aumento da comercialização de plantas medicinais e fitoterápicos ocorre em todo o mundo em razão de diversos fatores, como o alto custo dos medicamentos industrializados ou próprio modismo (Brandão et al., 1998). A elevação do consumo de plantas medicinais “in natura” ou sob a forma de produtos derivados ocorre no Brasil e em outros países e continentes, como Estados Unidos e Europa. Esta demanda é muito influenciada pela propaganda e divulgação nos meios de comunicação. Comumente, estes produtos são veiculados como recursos terapêuticos alternativos, isentos de efeitos indesejáveis, desprovidos de toxicidade e pela fraca atuação dos organismos estatais responsáveis pela vigilância sanitária. Logo, resulta-se em uma comercialização descontrolada em locais públicos, e na venda de formas derivadas simples em farmácias, supermercados e outros estabelecimentos comerciais (Silveira et al., 2008).

Hypericum perforatum L. é conhecido popularmente como erva-de-São-João ou hipérico, pertence à família Hipericeaceae e é composto quimicamente por: naftodiantronas (hipericina, pseudohipericina), floroglucínóis (hiperforina), taninos, flavonóides (quercetina, quercetrina, isoquercetina, rutina, fitotesteróis, vitaminas C, carotenos, aminoácidos e saponinas (Greeson et al., 2001). Seu extrato é utilizado para o tratamento de depressão leve a moderada, com perfil de tolerabilidade superior aos antidepressivos sintéticos. Segundo Ratz et al. (2001), as hipericinas são responsáveis pela atividade antidepressiva. Entretanto, Kirakosyan et al. (2004) sugerem a ação farmacológica ao grupo das hiperforinas. Contudo, os mecanismos de ação ainda não são totalmente conhecidos.

Diversas interações são atribuídas ao uso concomitante de *H. perforatum* e medicamentos. Stockley (2002) relata a redução dos níveis séricos de vários fármacos, provavelmente por indução das enzimas hepáticas citocromo P 450 e isoenzima CYP 1 A 2. O *H. perforatum*, como indutor enzimático, pode diminuir os

Autor correspondente: Rinaldo Eduardo Machado de Oliveira. Laboratório de Farmacognosia, Universidade Federal de São João del-Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Av. Sebastião Gonçalves Coelho, 400 – Bairro Chanadour, 35501-296, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. E-mail: rinaldo_eduardo@hotmail.com

níveis plasmáticos de outros fármacos como antidepressivos tricíclicos, amitriptilina, nortriptilina, anticonvulsivantes, anticoagulantes e varfarina (Stockley, 2002). Bhattaram et al. (2002) mostram que o hipérico interfere no efeito imunossupressor da ciclosporina, o qual é utilizado na prevenção de rejeição a órgãos transplantados.

No Brasil, o *H. perforatum* é comercializado em feiras livres e nos últimos anos tem sido componente de produtos industrializados, que são comercializados com indicações terapêuticas em farmácias, herbanários e casas de produtos naturais, seja como droga vegetal ou fitoterápico. Embora haja no país uma legislação que estabeleça critérios para a qualidade, e normas para produção e comercialização desses produtos, estes ainda têm sido comercializados fora dos padrões estabelecidos, sem garantia da eficiência terapêutica desejada ou da ausência de riscos à saúde do consumidor. Neste sentido, o presente artigo busca descrever a análise e o monitoramento de produtos farmacêuticos contendo *Hypericum perforatum* L. comercializados em Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Aquisição das amostras

Inicialmente, fez-se o reconhecimento de estabelecimentos que comercializam produtos farmacêuticos contendo *Hypericum perforatum* L. em Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. Em seguida, foram escolhidos três estabelecimentos comerciais em que se adquiriram amostras para análise. Escolheu-se uma casa de produtos naturais (H1-1, H1-2, H1-3, H1-4), um herbanário, ou seja, local em que se comercializam drogas vegetais (H2-1, H2-2, H2-3, H2-4) e uma farmácia de manipulação (H3-1, H3-2, H3-3, H3-4). Foi feito um estudo inicial dos produtos e posteriormente buscou-se monitorá-los ao longo de um ano (Outubro/2009 a outubro/2010) com periodicidade a cada três meses.

Análises farmacobotânicas

As amostras foram submetidas às análises, considerando-se aqueles requisitos descritos na monografia presente na Farmacopeia Portuguesa (2002) e procedimentos adicionais descritos na Farmacopeia Brasileira (2004) e na literatura complementar (Maggi et al., 2004; Ciccarelli et al., 2001). Foram avaliados os seguintes itens: aspectos macro e microscópicos, seguidos de quarteamento (Simões et al., 2001), umidade residual presente na droga vegetal pelo método gravimétrico de dessecação (Farmacopeia Brasileira, 2004; Simões et al., 2001) e teste de cinzas.

Dessecação

O teor de umidade foi determinado de acordo com o método descrito na Farmacopeia Portuguesa (2002). Esse método baseia-se na perda por dessecação em estufa e visa determinar a quantidade de substância(s) volátil(eis) de qualquer natureza eliminada(s) nas condições especificadas na monografia. Tal análise foi feita em triplicata para cada

amostra, exceto aquelas comercializadas no herbanário, uma vez que, não estavam de acordo com as características farmacobotânicas especificadas para o *H. perforatum*, sendo desnecessárias as análises posteriores.

Cinzas totais

A determinação quantitativa das cinzas totais foi realizada de acordo com o método descrito Farmacopeia Portuguesa (2002). Para isso, foram pesados aproximadamente 3,0 g do pó de hipérico pulverizado e em seguida, transferidos para cadinhos de porcelana previamente calcinados, arrefecidos e pesados. Após a distribuição uniforme das amostras nos cadinhos, as mesmas foram incineradas na temperatura de 600 °C. Em seguida, calcularam-se as porcentagens de cinzas em relação ao pó que foi submetido ao processo de secagem. Realizaram-se três repetições para todas as amostras, exceto aquelas comercializadas no herbanário como foi justificado anteriormente.

Doseamento de Hipericinas Totais

A quantificação do teor de hipericinas totais deu-se de acordo com a descrição da Farmacopeia Portuguesa (2002) após secagem e trituração do material adquirido como droga vegetal. Para o material encapsulado, optou-se por utilizá-lo diretamente na preparação dos extratos. A obtenção dos extratos foi realizada a partir da utilização de 500 mg de cada amostra que foram extraídos em 5 mL de metanol por 5 minutos sob refluxo. O filtrado foi concentrado até resíduo e redissolvido em 3 mL de metanol P.A. As determinações foram feitas em triplicata, utilizando espectrofotômetro UV-vis (Thermo Scientific Genesys 10 S) no comprimento de onda de 590 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de hipericinas totais por grama de matéria seca.

Cromatografia em Camada Delgada

A análise preliminar da composição química dos extratos metanólicos foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD) aplicando-se 20 µl do extrato bruto de cada amostra. Esta técnica foi desenvolvida em cromatoplasmas de sílica gel com fluorescência, e o eluente composto por acetato de etila: ácido acético glacial: água (100:11:26). Utilizou-se como revelador o NP/PEG (Natural Products / Polyethyleneglycol) seguido de incidência de luz UV a 365 nm (Wagner & Bladt, 2001). O padrão (rutina) foi preparado a partir de 1,0 mg dissolvido em 10ml de metanol e retirou-se uma alíquota de 0,1 ml.

Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e analisados estatisticamente utilizando-se o Sistema de Análise de Variância para Dados Balanceados, empregando-se software SISVAR 5.1 (Ferreira, 2011). Para comparação dos contrastes entre médias dos tratamentos foi utilizado o Teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. Os valores encontrados são apresentados na fórmula: média ± desvio padrão.

RESULTADOS

Análises Farmacobotânicas

As análises das amostras, quanto à presença ou ausência de características botânicas (morfológicas) que permitem a classificação como *Hypericum perforatum* L., estão descritas na Figura 1 e Tabela 1.

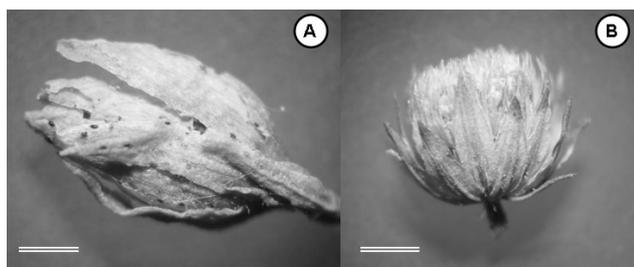


Figura 1. Aspectos morfológicos das flores encontradas nas amostras analisadas. A. Flor de uma amostra de *H. perforatum* L.; B. Flor do material falsificado (Barra 1mm).

Tabela 1. Resultados das análises farmacobotânicas dos produtos farmacêuticos contendo *H. perforatum* L.

Amostra	Tipo do Material Adquirido	Data da Aquisição	Presença ou ausência das Características Botânicas de <i>H. perforatum</i>
H1-1	DV	Outubro/2009	+
H1-2	DV	Fevereiro/2010	+
H1-3	DV	Junho/2010	+
H1-4	DV	Outubro/2010	+
H2-1	DV	Outubro /2009	-
H2-2	DV	Fevereiro /2010	-
H2-3	DV	Junho /2010	-
H2-4	DV	Outubro /2010	-
H3-1	C	Outubro /2009	+
H3-2	C	Fevereiro /2010	+
H3-3	C	Junho /2010	+
H3-4	C	Outubro /2010	+

DV = Droga Vegetal; C = Cápsula; + = presença das características; - = ausência das características.

Dessecação e cinzas

Realizaram os testes de dessecação e cinzas para verificar a quantidade de matéria inorgânica e orgânica respectivamente nas amostras H1-1, H1-2, H1-3, H1-4, H3-1, H3-2, H3-3 e H3-4. Não foram feitos tais testes para as amostras H2-1, H2-2, H2-3 e H2-4, uma vez que, a análise farmacobotânica confirmou não corresponder ao *H. perforatum*. Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2. Teor de hipericinas totais e porcentagem de umidade e cinzas nas amostras de *H. perforatum* adquiridas em estabelecimentos de Divinópolis, Minas Gerais, Brasil (amostras adquiridas em épocas diferentes e em lotes distintos).

Amostra	Umidade (%)	Cinzas (%)	Hipericinas (%)
H1-1	9,83 ± 0,30 b	5,59 ± 0,21 b	0,065 ± 0,004 e
H1-2	9,74 ± 0,28 bc	5,57 ± 0,28 b	0,074 ± 0,002 cd
H1-3	9,96 ± 0,24 a	5,68 ± 0,26 ab	0,071 ± 0,003 de
H1-4	9,77 ± 0,31 b	5,72 ± 0,30 a	0,073 ± 0,002 d
H3-1	9,51 ± 0,27 d	5,25 ± 0,33 d	0,082 ± 0,003 ab
H3-2	9,52 ± 0,29 d	5,31 ± 0,26 de	0,088 ± 0,002 a
H3-3	9,57 ± 0,25 d	5,39 ± 0,29 cd	0,080 ± 0,005 bc
H3-4	9,62 ± 0,19 dc	5,45 ± 0,24 c	0,087 ± 0,004 a

*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Doseamento de Hipericinas Totais

No doseamento buscava-se determinar o teor de hipericinas totais considerando a relação absorvância e massa da amostra, como proposto na Farmacopeia Portuguesa (2002). Os resultados obtidos pelo processo de doseamento estão descritos na Tabela 2, onde se observa a diferença significativa entre os valores encontrados, sendo que, sob o ponto de vista estatístico, as amostras H3-1, H3-2 e H3-4 foram as que apresentaram os maiores teores de hipericinas totais.



Figura 2. Cromatografia em camada delgada das amostras “hipérico” ou “erva-de-são-joão” comercializadas em Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. Fase móvel: acetato de etila: ácido acético : água 100:11:26. Revelador: NP/PEG. Pontos 1 e 2 correspondem as amostras obtidas no estabelecimento H1; 3, 4 e 5 obtidas no estabelecimento H2; 6 no estabelecimento H3; e ponto 7 corresponde a um fitoterápico disponível no mercado.

Cromatografia em Camada Delgada

O perfil cromatográfico preliminar das amostras adquiridas está descrito na Figura 2. Observa-se que as amostras obtidas no estabelecimento H1 e H3, apresentaram manchas com coloração e valores de Rf semelhantes ao do fitoterápico utilizado como referência, sugerindo sua autenticidade, enquanto que nas amostras adquiridas no estabelecimento H2 não foram detectadas nenhuma das características esperadas para extratos de *H. perforatum*.

DISCUSSÃO

As características farmacobotânicas das amostras foram semelhantes em cada estabelecimento, independentes da época de aquisição. Isto se deve, possivelmente, ao fato destes locais comprarem seus produtos sempre de um mesmo fornecedor. Observou-se também que as amostras adquiridas no herbanário (H2-1, H2-2, H2-3, H2-4) apresentaram caules e pedúnculos florais compatíveis com amostras anteriores que sugeriram pertencer ao gênero *Ageratum* sp. Após minuciosa análise microscópica das amostras (H3-1, H3-2, H3-3, H3-4) verificou-se que as cápsulas obtidas eram preenchidas com droga vegetal de *H. perforatum* L. pulverizada e não de extrato seco como sugerido por estudos realizados por Linde et al. (2008). Todas as amostras adquiridas apresentavam fragmentos vegetais em diversos estágios de desenvolvimento o que sugere, no mínimo, um grande descuido quanto à coleta de matéria-prima para a confecção do produto a ser comercializado, considerando que diversos fatores, tais como: estágio do desenvolvimento vegetal em que a planta foi coletada e uso de subsespécies no preparo de formulações, podem interferir de maneira significativa no produto final. Profissionais prescritores ainda são resistentes quanto ao uso de fitoterápicos devido à origem extrativista de muitas plantas medicinais utilizadas no Brasil, bem como a falta de cuidado na coleta e tratamento do material e as frequentes falsificações que ocorrem por negligência ou por espécies vegetais diferentes receberem nomes comuns iguais em várias regiões do país. Plantas medicinais, como qualquer outro medicamento, devem comprovar sua segurança e eficácia para uso, exigindo que um elaborado plano de controle de qualidade seja estabelecido em toda a sua cadeia produtiva, desde o seu plantio até a droga vegetal ou fitoterápico pronto para dispensação (Souza-Moreira, 2010).

Os resultados da Tabela 2 demonstram que as amostras comercializadas na casa de produtos naturais e Farmácia de Manipulação possuem teor de umidade e cinzas em conformidade com a Farmacopéia Portuguesa (2002) que delimita no máximo 10% e 7%, respectivamente.

Segundo Wagner & Bladt (2001), o teor de hipericina esperado em produtos contendo *Hypericum perforatum* deve encontrar-se entre 0,05% e 0,6%. Assim, observando a Tabela 2 é possível verificar que todas as amostras estão dentro do limite especificado. Além disso, os resultados

obtidos demonstram que produtos comercializados em Farmácias de Manipulação (amostras H3-1, H3-2, H3-3 e H3-4) possuem maior teor de hipericinas totais quando comparados aos produtos comercializados em casa de produtos naturais (amostras H1-1, H1-2, H1-3 e H1-4).

Sabe-se que a utilização de plantas medicinais é crescente, uma vez que muitas pessoas consideram tais produtos como inócuos a saúde. Entretanto, a ausência de qualidade, eficácia e segurança dos produtos é prejudicial ao meio ambiente e à saúde pública. Neste estudo verificou-se que quatro amostras (H2-1, H2-2, H2-3 e H2-4) eram produtos diferentes daqueles anunciados, caracterizando uma falsificação da espécie estudada por *Ageratum* sp., que em algumas localidades brasileiras também é conhecida popularmente como erva-de-são-joão ou mentrasto. Nesse sentido, verifica-se que uso de espécies medicinais, levando-se em consideração apenas o nome popular pode causar erros como os descritos por este trabalho. Muitas das espécies utilizadas como medicinais são comercializadas secas, em fragmentos de dimensões variadas e, portanto, sua adulteração torna-se facilitada (Lolis & Milaneze-Gutierrez, 2003). Além disso, observou-se que as amostras não cumpriram totalmente os requisitos exigidos pela legislação federal brasileira. Assim, faz-se necessário reforçar a vigilância farmacêutica para garantir à população produtos de qualidade, adequados ao uso e função terapêutica indicada.

AGRADECIMENTO

O autor JMS agradece ao CNPq pela bolsa produtividade em pesquisa. Ao programa PIBIC/UFSJ/CNPq pela bolsa ao REMO. Os autores são também gratos a FAPEMIG pelo recurso para pesquisa (Grant) dentro do projeto PPM-00108-11.

ABSTRACT

Analysis and monitoring of the quality of pharmaceutical products containing Hypericum perforatum L., marketed in Divinópolis, State of Minas Gerais, Brazil

The growing trade market in herbal medicines is a worldwide phenomenon due to several factors, from the high cost of manufactured drugs to mere fashion. In this study, we tested the quality of pharmaceutical products based on *Hypericum perforatum* L. (Eng. “St John’s Wort”) marketed in Divinópolis City, State of Minas Gerais, Brazil. Samples of products labeled *H. perforatum* were purchased at three commercial stores, at various times during one year. We assessed the following items: pharmacobotanical characteristics, humidity, total ash, hypericin content and thin layer chromatographic profile. Close inspection showed that 4 of the 12 samples sold as *H. perforatum* products were from a different plant from that advertised, representing a forgery in which the true species was replaced by

***Ageratum* sp. Besides, the samples did not entirely meet the legal requirements for herbal medicine. Therefore, there is a need to strengthen pharmaceutical vigilance, to ensure that herbal products are suitable for public use.**

Keywords: *Hypericum perforatum*. Quality control. Herbal medicines. Trade. Thin Layer Chromatography (TLC).

REFERÊNCIAS

- Bhattaram VA, Graefe U, Kohlert C, Veit M, Derendorf H. Pharmacokinetics and bioavailability of herbal medicinal products. *Phytomedicine*. 2002;9(3):1-33.
- Brandão MGL, Freire N, Vianna-Soares CD. Vigilância de fitoterápicos em Minas Gerais. Verificação da qualidade de diferentes amostras comerciais de camomila. *Cad Saúde Pública*. 1998;14(3):613-6.
- Ciccarelli D, Andreucci A, Pagni A. Translucent glands and secretory canals in *Hypericum perforatum* L. (Hypericaceae): morphological, anatomical and histochemical studies during the course of ontogenesis. *Ann Bot. London* 2001;88:637-44.
- Farmacopeia Brasileira. 4ª ed. Parte II. São Paulo: Atheneu; 2004.
- Farmacopeia Portuguesa. 7ª ed. Lisboa: Infarmed; 2002.
- Ferreira DF. SISVAR: a computer statistical analysis system. *Cienc Agrotec*. 2011; 35(6):1039-42.
- Greeson J, Sanford B, Monti D. St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*. 2001;153:402-14.
- Kirakosyan A, Sirvent T, Gibson D, Kaufman P. The production of hypericins and hyperforin by in vitro cultures of St. John's wort (*Hypericum perforatum*). *Biotechnol Appl Biochem*. 2004;39:71-81.
- Linde K, Berner MM, Kristen L. St John's wort for major depression. *Cochrane Db Syst Rev*. 2008; Issue 4. Art. No.: CD000448. DOI: 10.1002/14651858.CD000448.pub3.
- Lolis MIGA, Milaneze-Gutierrez MA. Morfo-anatomia das folhas de *Vernonia condensata* Baker (Asteraceae), o "figatil". *Braz J Pharmacogn*. 2003;13:68-71.
- Maggi F, Ferretti G, Posseschi N, Menghini L, Ricciutelli M. Morphological, histochemical and phytochemical investigation of the genus *Hypericum* of the Central Italy. *Fitoterapia*. 2004;75:702-11.
- Ratz A, Von Moos M, Drewe J. St. John's wort: a pharmaceutical with potentially dangerous interaction. *Schweiz Rundsch Med Prax*. 2001;90:843-9.
- Silveira P, Bandeira M, Arrais P. Farmacovigilância e reações adversas às plantas medicinais e fitoterápicos: uma realidade. *Braz J Pharmacogn*. 2008;18(4):618-26.
- Simões C, Schenkel E, Gosman G, Mello J, Mentz L, Petrovick (Org.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3ª ed. rev. Florianópolis: Ed. UFSC; 2001.
- Souza-Moreira TM, Salgado HRN, Pietro RCLR. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. *Braz J Pharmacogn*. 2010;20:435-40.
- Stockley I. *Stockley's drug interactions*. 6th. ed. London: Pharmaceutical Press; 2002.
- Wagner H, Bladt S. *Plant drug analysis: a thin layer chromatography atlas*. 2nd. ed., Berlin: Springer; 2001.

Recebido em 19 de março de 2013.

Aceito em 08 de agosto de 2013.

