

CONTROLE DE QUALIDADE DO EXTRATO BRUTO *Poincianella pluviosa* E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Victor Antonio Dallacort Muniz (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Ana Carolina Guidi (Coorientador), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador), e-mail: mello@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Farmácia / Farmacognosia

Palavras-chave: *Poincianella pluviosa*, controle de qualidade, cromatografia.

Resumo:

A *Poincianella pluviosa* (DC.) L. P. Queiroz, planta popularmente conhecida como sibipiruna, apresenta propriedades farmacológicas relacionadas com as cascas do caule, destacando o uso para tratamento de problemas estomacais e disenterias, atividade antimicrobiana e atividade cicatrizante. A partir das cascas de *P. pluviosa* foram realizados ensaios farmacopeicos para o controle de qualidade e o extrato submetido a identificação por cromatografia líquida de alta eficiência. O cromatograma de uma fração semipurificada foi comparado com os padrões pirogalol, ácido gálico e geraniina e identificados. As análises de controle de qualidade seguem os padrões da farmacopeia e seus resultados estão dentro dos valores estabelecidos.

Introdução

Os vegetais produzem por meio do metabolismo secundário diversas substâncias que podem apresentar características farmacológicas. As plantas medicinais foram uma das primeiras formas de práticas medicinais utilizadas como cura e tratamento para as enfermidades. Com a finalidade de descobrir novas opções terapêuticas e novas propriedades medicinais, estudos são realizados com essas plantas.

Entre os vegetais estudados encontra-se a espécie *Poincianella pluviosa* (DC.) L. P. Queiroz, pertencente à família Fabaceae. É uma planta popularmente conhecida como sibipiruna ou falso-pau-brasil, árvore nativa do Brasil (MANEJO FLORESTAL, 2012) e se concentra nas áreas da Mata Atlântica e do Pantanal.

As propriedades farmacológicas do *P. pluviosa* estão relacionadas com extratos a partir da casca do caule que apresenta dentre os compostos majoritários, esteroides, taninos, flavonoides e saponinas (BUENO et al., 2012).

O uso popular da *P. pluviosa* como planta medicinal para tratamento de algumas enfermidades, nos leva a necessidade de avaliar as características dos compostos e isolar as substâncias da planta para utilização na área farmacêutica. Portanto, este trabalho tem a finalidade de realizar o controle de qualidade do extrato bruto de *P. pluviosa* e identificar os compostos majoritários por CLAE.

Material e métodos

Teor de umidade

Utilizaram-se duas metodologias para determinar o teor de umidade: gravimetria e infravermelho. Na análise por gravimetria, foram pesadas 2,0 g da droga vegetal em pesa-filtros e em seguida colocados em estufa por 2 h, à temperatura de 105 °C. Este procedimento foi repetido até obtenção de peso constante. Na segunda metodologia, foi pesado 1 g da droga vegetal em balança de infravermelho. As amostras permaneceram a 105 °C durante 1 min (n=3).

Determinação do teor de extrativos

Foi pesado exatamente cerca de 1,0 g da droga vegetal cominuída, sendo submetida à decocção com 100,0 mL de água, durante 10 min. Após o resfriamento, a solução foi transferida para balão volumétrico e seu volume completado para 100,0 mL. Após filtração em papel filtro, foi pesada uma alíquota equivalente a 20,0 g do filtrado, em pesa-filtro previamente tarado, e este foi levado à evaporação até secura em banho-maria. O pesa-filtro foi colocado em estufa, à temperatura de 105 °C até peso constante, resfriado em dessecador e pesado (n=3).

Determinação de cinzas totais

Cerca de 3 g da droga vegetal pulverizada foram pesadas e transferidas para cadinho, previamente calcinado, resfriado e pesado. A amostra foi distribuída em um cadinho e incinerada, não ultrapassando a temperatura de 450 °C, eliminando todo o carvão. O mesmo foi resfriado e pesado, sendo calculado a porcentagem de cinzas totais em relação à droga vegetal seca ao ar (FARMACOPEIA, 2010) (n=3).

Preparação de extrato bruto

As cascas secas cominuídas foram levadas a Ultra-turrax (UTC115KT) por 15 min. Foram utilizados 350 g de droga vegetal, seca e moída, e empregado 3,5 L de álcool 50% como líquido extrator, na proporção de 10% (p/v). Após filtração do extrato e evaporação do solvente orgânico em evaporador rotatório sob pressão reduzida, o extrato foi congelado e liofilizado, obtendo-se assim o extrato bruto (EB).

Preparação da fração acetato de etila (FAE) e aquosa (FAQ)

O EB (35,38 g) foi resuspenso em 350 mL de água destilada e particionado 10 vezes com 350 mL, cada vez, de acetato de etila. As fases acetato de etila reunidas foram concentradas em evaporador rotatório sob pressão reduzida até eliminação total do solvente orgânico, congeladas e liofilizadas, obtendo-se a fração acetato de etila (FAE). A fase aquosa restante também foi concentrada, congelada e liofilizada, obtendo-se a fração aquosa (FAQ).

Avaliação da fração FAE por CLAE

Para análise na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizou-se coluna Phenomenex® Onix Monolithic C18 (100 mm x 4.5 mm, 100 Å, 5 µm). A fase móvel foi: fase A (água com 0,05% ácido trifluoracético [TFA]) e fase B (acetonitrila com 0,05% TFA). Foi desenvolvido um sistema isocrático com A:B (90:10, v/v). A análise foi realizada a um fluxo de 0,5 mL/min com detecção em 280 nm à temperatura ambiente (22 ± 3 °C; injeção de 20 µL). Foram preparadas soluções padrão de ácido gálico, pirogalol e geraniina, dissolvendo em metanol 20% e analisadas nas mesmas condições anteriores.

Resultados e Discussão

Na determinação do teor de umidade, obteve-se ao final um percentual de perda por dessecação de 9,64% no método gravimétrico. O segundo método foi determinado através da balança de infravermelho obtendo-se 9,72% de umidade. Para análise de cinzas totais obteve-se 12,2%. O teor de umidade e o teor de cinzas apresentaram-se dentro dos limites padronizados pelas farmacopeias, com variação de 8 a 14% para a umidade e máximo de 14% de cinzas totais (FARMACOPEIA, 2010).

O teor de umidade avalia a água em excesso na droga vegetal, a qual, pode influenciar na contaminação e crescimento de fungos e bactérias, além de permitir a ação de enzimas, degradando a droga vegetal (ANTONELLI-USHIROBIRA et al., 2004). A determinação de cinzas totais indica a quantidade de matéria inorgânica não volátil na amostra, indicando possível adulteração e/ou contaminação.

Outra análise que auxilia na avaliação da qualidade da droga vegetal é a determinação do teor de extrativos. Neste ensaio obteve-se uma média de teor de extrativos de 11,4%. A partir desta análise é possível verificar a quantidade de constituintes extraídos da droga vegetal durante o processo pelo líquido extrator. Essa é uma característica própria de cada vegetal e deve ser realizada anteriormente à preparação do extrato bruto. Para a preparação do extrato bruto por Ultra-turrax utilizou-se como solvente etanol 50% (v/v), por apresentar melhor rendimento de extração (BUENO et al., 2012). Esse rendimento foi de 11,6% (36,23 g EB), comparativamente ao de Bueno et al. (2012) que obteve 14%.

O extrato bruto foi particionado obtendo as frações FAQ e FAE. Os rendimentos foram de: 22,4% e 38,8% para FAE e FAQ, respectivamente. A FAE foi analisada por CLAE, seguindo metodologia proposta.

A identificação por CLAE dos compostos da FAE de *P. pluviosa* e em comparação com os padrões auxilia na garantia da qualidade do extrato.

Na figura 1, encontra-se o perfil cromatográfico da FAE de *P. pluviosa* que foi comparado com os padrões.

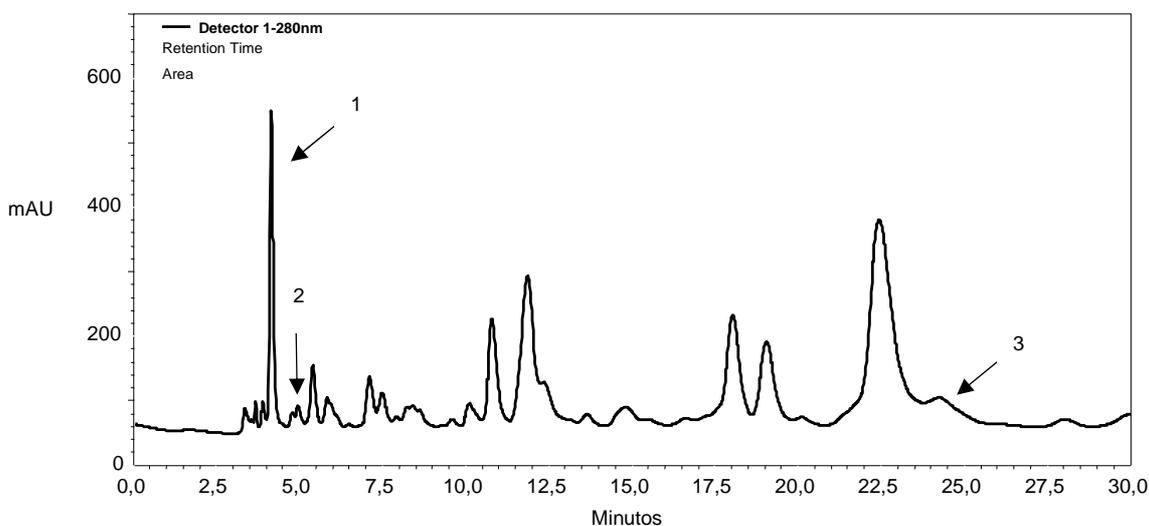


Figura 1 – Perfil cromatográfico da FAE de *Poincianella pluviosa*. 1: ácido gálico (tr=4,083); 2: pirogallol (tr=4,898); 3: geraniina (tr=24,183). tr=tempo de retenção em minutos.

Conclusões

As análises realizadas para controle de qualidade do extrato bruto das cascas de *P. pluviosa* mostraram que os resultados cumprem as especificações estabelecidas pelas Farmacopeias. Foi possível estabelecer por CLAE informações que possam ser empregados no isolamento de compostos majoritários do extrato de *P. pluviosa*.

Agradecimentos

Agradecimentos a Fundação Araucária, ao Laboratório PALAFITO e ao CNPq/Capes.

Referências

ANTONELLI-USHIROBIRA, T.M.; YAMAGUTI, E.; UHEMURA, L.M.; MELLO, J.C.P. Controle de qualidade de amostras de *Paulinia cupana* H.B.K. var. *Sorbilis* (Mart.) Ducke. *Acta Farmacêutica Bonaerense*, v.23, p.383-386, 2004.

BUENO, F. G.; PANIZZON, G. P.; MACHARETH, M. A. D.; LOPES, G. C. L.; LEITE-MELLO, V. S.; MELLO, J. C. P. Development of a UV/VIS spectrophotometric method for analysis of total polyphenols from *Caesalpinia peltrophoroides* Benth. *Química Nova*, v.35, p.822- 826, 2012.

FARMACOPEIA Brasileira, parte I. Comissão Permanente de Revisão da Farmacopeia Brasileira, 5ª Ed., Brasília: Anvisa, 2010.

UNICENTRO. **Manejo florestal.** Disponível em <<https://sites.unicentro.br/wp/manejoflorestal/12340-2/>>. Acessado em 10/04/2018.