

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DOSEAMENTO DE FLAVONOÍDES PARA FITOTERÁPICO UTILIZADO NA MEDICINA TRADICIONAL CHINESA

Wilson Nathan de Carvalho Previato (PIC/UEM), Bruna Gheller de Souza (Coautora), Adriana Lenita Meyer Albiero (Coautora), Andréa Diniz (Coautora), Marcos Yau (Coautor), Fernanda Belincanta Borghi Pangoni (Orientadora), e-mail: fbbpangoni2@uem.br.

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

Farmácia/ Análise e Controle de Qualidade de Medicamentos

Palavras-chave: *Crataegus pinnatifida*, Medicina Tradicional Chinesa, Controle de Qualidade.

Resumo:

O *Crataegus pinnatifida* é muito utilizado na medicina tradicional chinesa devido suas diversas atividades como antiinflamatória, antioxidante e atuação em doenças cardiovasculares. Neste trabalho foi realizado o doseamento de flavonoides contidos no extrato dos frutos de *C. pinnatifida* como parte do controle de qualidade do produto. O método foi validado e apresentou-se linear, seletivo e preciso. O extrato foi produzido na proporção 1/10 de planta e líquido extrator. O doseamento de flavonoides totais demonstrou um teor de 0,0167%, que representa 0,1% de flavonoides totais em um grama de droga vegetal.

Introdução

Controle de qualidade é um termo muito utilizado no meio industrial, e é caracterizado por avaliar, garantir e aperfeiçoar a qualidade de análise de produtos, materiais e afins. Além disso, deve apresentar métodos precisos e exatos. No controle de qualidade, durante o desenvolvimento de um método analítico é essencial que seja realizado um rígido protocolo, principalmente para que o método seja validado e replicável (ANVISA, 2017).

Atualmente, vem aumentando a procura pela utilização de tratamentos alternativos, um destes tratamentos que tem ganhado grande destaque entre a população brasileira é a utilização da Medicina Tradicional Chinesa (MTC), que trabalha essencialmente com as características e qualidades de plantas medicinais (ALVES, 2017).

Crataegus pinnatifida é uma planta muito popular no meio medicinal chinês devido ao seu alto teor polifenólico, suas propriedades terapêuticas estão relacionadas à redução de colesterol, atuação em doenças cardiovasculares, em doenças inflamatórias, destacando-se principalmente o seu alto potencial antioxidante. Segundo Jurikova e colaboradores (2012), os frutos desta espécie possuem a quercetina como um dos seus flavonoides majoritários, que é um dos compostos responsáveis por contribuir para seu alto potencial antioxidante (JURIKOVA, 2012).

Desta forma este trabalho tem como objetivo realizar o controle de qualidade do extrato dos frutos de *Crataegus pinnatifida*.

Materiais e métodos

A droga vegetal utilizada foi adquirida em farmácias credenciadas na cidade de Hong Kong na China. Esta amostra será considerada padrão de referência para posteriores análises.

Preparo do extrato

Os frutos de *Crataegus pinnatifida* foram cominuídos em moinho de facas, o pó do fruto foi submetido ao método de extração por turbólise, em uma proporção de 1/10 (p/p) de droga vegetal e líquido extrator (etanol 80%, p/p). A extração foi realizada seguindo a metodologia farmacopeica (BRASIL, 2010).

O extrato foi submetido a rotaevaporação, em seguida foi congelado em nitrogênio líquido e sujeito a liofilização. Após liofilizado o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e mantido sobre refrigeração em freezer a -25°C.

Varredura do extrato

A varredura do extrato foi realizada em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800 (190-900nm). Para este ensaio o extrato foi diluído em uma proporção de 0,5 mg/mL em etanol 80.

Curva de calibração da Quercetina

A quercetina foi adotada como composto marcador para a execução do doseamento. Neste sentido, para a curva de calibração da quercetina foi utilizada a metodologia adaptada para teor de flavonoides totais (TFT) especificada na monografia da Calêndula encontrada na Farmacopeia Brasileira, volume 2 (BRASIL, 2010). A solução estoque foi preparada na concentração de 0,1mg/mL de quercetina, e a partir dela as seis demais concentrações foram obtidas. A curva de calibração foi elaborada utilizando as concentrações de 0,0025mg/mL; 0,005mg/mL; 0,0075mg/mL; 0,01mg/mL; 0,015mg/mL e 0,02mg/mL. A partir destas concentrações foram preparadas as soluções lidas em espectrofotômetro, branco e amostra, como descrito na monografia da Calêndula, e cada amostra deve conter seu próprio branco.

Os dados apresentados na curva de calibração representam a média dos dados obtidos em triplica, segundo a RDC 166 (ANVISA, 2017). As amostras foram lidas em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, em 425nm.

Doseamento de flavonoides totais

O doseamento de flavonoides totais foi realizado a partir do extrato seco liofilizado do fruto de *C. pinnatifida*, baseado na metodologia de teor de flavonoides totais especificada na monografia da Calêndula encontrada na Farmacopeia Brasileira 2ª

edição (BRASIL, 2010). Foi utilizado uma solução de 24mg/mL de extrato para o doseamento, o branco foi preparado com a mesma concentração. A amostra foi lida em triplicata em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800, em 425nm.

Resultados e Discussão

O preparo do extrato foi realizado a partir de 17,73g de droga vegetal cominuída, a eficiência extrativa gerou uma massa total de 4,2g de extrato seco, desta forma rendimento obtido foi de 23,69%.

Foi realizado um perfil cromatográfico do extrato de *Crataegus pinnatifida*, através da varredura em espectrofotômetro (Gráfico 1). O perfil cromatográfico de um extrato faz parte do controle da qualidade do mesmo.

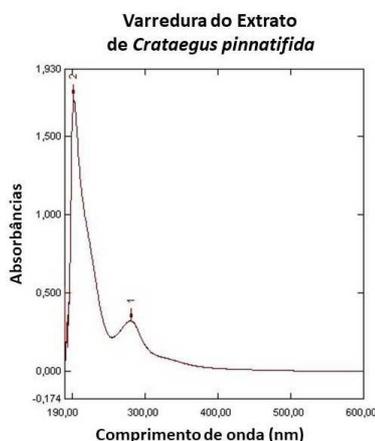


Gráfico 1- Varredura do Extrato de *Crataegus pinnatifida*, realizada em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.

A pesquisa fitoquímica de marcadores é muito comum em avaliação de extratos vegetais. Desta forma, segundo Jurikova e colaboradores (2012).Tendo isso em vista, foi observado que a quercetina é um dos flavonoides majoritários presentes na composição do fruto de *Crataegus* (JURIKOVA, 2012), tendo isso em vista, a quercetina foi utilizada como marcador para doseamento do extrato.

A curva de calibração da quercetina, demonstrada no Gráfico 2, revelou boa linearidade, com valor de coeficiente de determinação (R^2) de 0,9994. A seletividade foi analisada pela capacidade em quantificar um analito referência (quercetina), e apresentou-se adequada. A análise de precisão foi avaliada pela repetibilidade, e apresentou –se adequada nos três níveis de concentração testados (ANVISA, 2017). Para avaliação do controle de qualidade do extrato, este foi submetido ao doseamento de flavonoides totais (FT), conforme descrito na monografia da Calêndula (BRASIL, 2010). Este ensaio demonstrou que, no extrato de *Crataegus* a concentração de flavonoides totais encontrados em 24 mg/mL de extrato foram de 0,0167% de FT, que correspondem a 0,1015mg/mL de FT. Correlacionando o TFT encontrados no extrato, com a droga vegetal, pode-se dizer que em um grama de droga vegetal possui 0,1% de flavonoides totais.

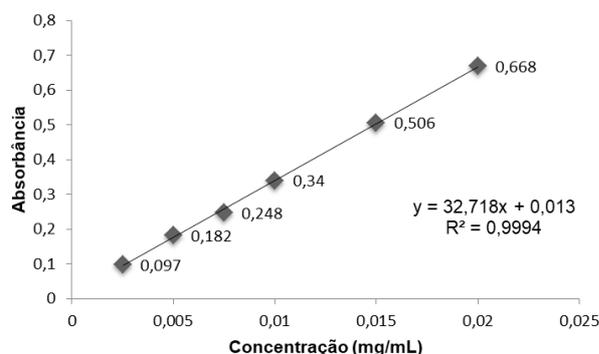


Gráfico 2- Curva de calibração da Quercetina padrão, realizada em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800.

Conclusões

O sistema extrativo utilizado produziu um extrato com teor de 0,0167% de flavonoides totais. Estes flavonoides podem ser um dos compostos responsáveis pelas atividades terapêuticas do *Crataegus*. Desta forma, novos ensaios devem ser realizados para o controle de qualidade deste extrato.

Agradecimentos

Universidade Estadual de Maringá (UEM), Laboratório Palafito e Laboratório LABSLiF.

Referências

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. Brasília, 2017.

ALVES, Fabiola Medeiros et al. Orientação sobre o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos brasileiros na medicina tradicional chinesa. 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopéia Brasileira 5ª Ed., volume 1 e 2. Brasília: ANVISA, 2010.

JURIKOVA, Tunde et al. Polyphenolic profile and biological activity of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* BUNGE) fruits. **Molecules**, 2012.