

CONTROLE DE QUALIDADE E CITOTOXICIDADE DO EXTRATO E FRAÇÃO SEMIPURIFICADA DE *Stryphnodendron rotundifolium*

Rebeca Monteiro Tonelo (PIC/ UEM), Eloisa Lorenzi da Silva, Bárbara Longhini Gonzalez (Co-orientadora), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador). E-mail: rebecatonelo@gmail.com.

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

Farmácia/Farmacognosia

Palavras-chave: Barbatimão do cerrado; Fibroblastos; Farmacognosia.

RESUMO

Com o aumento do uso de fitoterápicos, torna-se essencial a análise do controle de qualidade e citotoxicidade, garantindo a segurança desses produtos baseados nos parâmetros estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira. *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. var. *rotundifolium* (sinonímia de *S. obovatum* Benth.), conhecido como “Barbatimão do Cerrado”, apresenta atividades atribuídas a presença de compostos fenólicos em sua casca. Esse estudo teve como objetivo avaliar a qualidade das cascas de Barbatimão, investigando a citotoxicidade do extrato bruto (EB) e fração acetato de etila (FAE) em fibroblastos (L-929). As cascas secas e cominuídas foram submetidas a análises organolépticas, físicas, de pureza, ensaios qualitativos e de doseamento. A droga vegetal (DV) apresentou coloração marrom, odor aromático, amadeirado suave e granulometria média de 220 µm. Parâmetros obtidos de pureza incluíram teor de umidade de 11,14% ± 0,25 (2,25%), perda por dessecação de 10,67 ± 0,02 (0,18%) e o teor de cinzas em relação a DV seca de 2,78% ± 0,03 (1,01%). Foram detectados a presença de taninos e índice de espuma superior à 1000. O teor de polifenóis totais foi de 8,15 g de pirogalol/100 g de DV ± 0,05 (0,65%). O teor de extrativos foi de 1,32 ± 0,005 (0,38%) para água destilada, e 1,43 ± 0,047 (3,32%) para acetona:água. O ensaio de citotoxicidade demonstrou que concentrações ≤ 9,38 µg/mL são atóxicos, estimulando a proliferação celular. Esses resultados garantiram a qualidade da DV dentro das especificações farmacopeicas, demonstrando ausência de toxicidade e proliferação celular em concentrações adequadas.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a utilização dos fitoterápicos está em crescimento, motivados pelo custo dos medicamentos sintéticos, busca por tratamentos mais brandos à saúde e os avanços dentro da área. Dessa forma, o controle de qualidade das matérias-primas utilizadas na produção de fitomedicamentos é fundamental para garantir a eficácia e segurança do paciente. A Farmacopeia Brasileira é utilizada como

referência para os testes que garantem a identidade e qualidade dos insumos vegetais (Brasil, 2024).

Dentre as espécies do cerrado, encontra-se o *Stryphnodendron rotundifolium* Mart. var. *rotundifolium* (sinonímia de *S. obovatum* Benth.), conhecido como “Barbatimão do Cerrado” (Scalon *et al.*, 2022; Brasil, 2024). A espécie possui diversas atividades farmacológicas, como cicatrizante, antimicrobiana, antioxidante e antileishmania. Contudo, não existem relatos da toxicidade da espécie, sendo importante a avaliação. Assim, por meio de ensaios de citotoxicidade pode-se determinar possíveis efeitos citotóxicos, e avaliar correlações com os metabólitos secundários da espécie (Oliveira *et al.*, 2020). Popularmente, nas preparações com Barbatimão, a parte mais utilizada é a casca, com alta concentração de compostos fenólicos, como taninos condensados, favorecendo a atividade antioxidante (Zocoler *et al.*, 2009).

Portanto, foi realizado o controle de qualidade das cascas de *S. rotundifolium* e a citotoxicidade do extrato bruto e fração acetato de etila em fibroblastos.

MATERIAIS E MÉTODOS

As cascas de *S. rotundifolium* foram coletadas em 23 de agosto de 2024, na Estação Ecológica de Assis/SP (22°33' a 22°36' S e 50°22' 50°23' W, h=580 m). Sua exsicata foi preparada, identificada e depositada no Herbário do Departamento de Biologia da Universidade Estadual de Maringá (UEM), sob número HUEM nº 41809. O acesso ao material botânico de *S. rotundifolium* está registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen sob número ACD8D5E.

As cascas foram secas e armazenadas em barriletes de papelão, sendo moídas para serem empregadas na preparação dos extratos e acondicionadas ao abrigo da luz e umidade.

Para os testes de pureza, a determinação da quantidade de água presente nas cascas foi realizada por perda por dessecação e o teor de cinzas totais, realizado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024).

Foram realizados testes qualitativos para identificação da presença de taninos. Foi produzida uma solução extrativa de 2,0 g da droga vegetal em 20,0 mL de água destilada, sob refluxo durante 15 min, esfriada, filtrada e o volume ajustado em balão volumétrico de 20 mL. Para a reação de polifenóis foi preparado uma mistura de 1,0 mL de solução de cloreto férrico a 1% (p/v) e 1,0 mL de solução de ferrocianeto de potássio a 1% (p/v). Então, 5 gotas dessa mistura foram colocadas em 20 mL de extrato aquoso de *S. rotundifolium* a 10%. Para o teste de taninos foram adicionados 3 gotas da solução de FeCl₃ a 1,0% na solução extrativa. Para a determinação de taninos pelo método de Stiasny, foi submetido a refluxo, durante 30 min, 50 mL da solução extrativa e 15 mL do reativo de Stiasny, observando a formação de flobafenos. Para o teste de gelatina, foram adicionados 3 mL de solução extrativa em tubo de ensaio e gotas da solução de gelatina, observando a precipitação dos taninos. Para a determinação de saponinas, o método foi realizado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024).

Foi realizado a análise do teor de extrativos empregando dois solventes distintos: água destilada e mistura acetona-água (7:3, v/v). Para ambos, foi preparado um extrato na proporção 1:100 (m/v), sob refluxo, por 10 min. Depois de frio, foi vertido em um balão volumétrico de 100 mL. Então, foi filtrado, desprezando os primeiros 20 mL. Foi transferido volumetricamente em um pesa-filtro tarado 20 mL do filtrado e evaporado em banho-maria. Após a evaporação, o pesa-filtro foi colocado em estufa a 105,0 °C por 2 h, retirado e colocado em dessecador.

Também foi realizado o doseamento de polifenóis totais, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2024), sendo utilizado a droga vegetal (DV) com granulometria de 250 µm.

A DV foi submetida à turbo-extração (Ultra-turrax®), com mistura de solventes acetona:água (7:3; v/v) e tempo de extração de 20 min, sendo o extrato filtrado, concentrado e seco, obtendo o extrato bruto (EB). O EB foi solubilizado em água destilada e particionados com acetato de etila em funil de separação. A fração acetato de etila (FAE), foi concentrada, liofilizada, pesada e armazenada em freezer.

Foi realizada a avaliação de citotoxicidade do EB e FAE, pela metodologia do MTT-tetrazólio, conforme Mosmann (1983), com modificações. O ensaio utilizou a linhagem de fibroblastos, L-929 (ATCC® CCL1™), mantidos e cultivados em meio de cultura *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) com soro fetal bovino a 10% (v/v) e penicilina-estreptomicina a 1% a 37,0 °C em uma atmosfera de 5,0% de CO₂ (Chieritto *et al.*, 2019). Foram cultivadas $2,5 \times 10^5$ células viáveis/poço em placa de 96 poços e incubadas por 24 h. As células foram tratadas com as amostras de EB e FAE em variadas concentrações durante 24 h. Após o tratamento, as células foram lavadas com PBS e 100 µL de MTT (0,5 mg/mL) foram adicionados, seguido de incubação por 4 h, ao abrigo da luz. O meio foi removido e adicionado dimetilsulfóxido (DMSO). Após isso, foi realizada leitura em espectrofotômetro de microplacas no comprimento de onda de 540 nm. A porcentagem de células viáveis foi determinada em relação ao grupo controle não tratado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com o sistema RCG de cores, a DV apresentou coloração marrom. Com odor descrito com intensidade fraca, aromática e amadeirado. O pó possui diâmetro médio de partículas de 220 µm (pó moderadamente grosso) (Brasil, 2024).

A quantidade de água presente na DV seca foi de 11,14% ± 0,25 (2,25%) e perda por dessecação de 10,67 ± 0,02 (0,18%), com teor de cinzas totais de 2,78% ± 0,03 (1,01%) em relação à droga vegetal seca. A análise de umidade foi realizada por duas metodologias distintas, afim de comparar os resultados. Os valores obtidos apresentaram uma pequena variação ocasionada devido à realização das metodologias em dias diferentes. Vale ressaltar que a secagem da DV é uma etapa fundamental, pois a umidade pode interferir nos resultados, ou seja, a remoção da água garante a padronização de resultados.

A partir dos testes qualitativos foi possível indicar a presença ou ausência de diferentes grupos de substâncias. Dessa forma, foram identificados taninos, pelos diferentes métodos aplicados, e saponinas.

O teor de polifenóis totais obtido foi de 8,15 g de pirogalol/100 g de DV $\pm$ 0,05 (0,65%). A determinação do teor de extrativos foi realizada com dois solventes distintos. Quando utilizada a água, obteve-se um valor de $1,32 \pm 0,005$ (0,38%), enquanto com a utilização de acetona-água resultou-se em $1,43 \pm 0,047$ (3,32%), corroborando com a utilização da mistura de acetona-água, com maior capacidade extratora.

Com a análise de citotoxicidade, pode-se observar que o EB e a FAE em concentrações $\leq 9,38$ $\mu\text{g/mL}$ não causam morte celular com capacidade de proliferação celular relacionado a atividade cicatrizante proporcionada pela espécie.

CONCLUSÕES

Os resultados asseguram a qualidade da droga vegetal utilizada, evidenciada pelos parâmetros físico-químicos e de pureza dentro das especificações farmacopeicas. Também, foi confirmada a presença de compostos característicos da casca do Barbatimão, como taninos e saponinas. Pela avaliação da citotoxicidade, pode-se observar a ausência de toxicidade e favorecimento na proliferação celular em concentrações baixas, corroborando a atividade cicatrizante da planta.

AGRADECIMENTOS

Laboratório Palafito e Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Farmacopeia Brasileira**: Volume 2 – Monografias, Plantas Medicinais. 7. ed. Brasília: Anvisa, 2024. 764 p.

CHIERRITO, D.; VILLAS-BOAS, C. B.; TONIN, F. S.; FERNANDEZ-LLIMOS, F.; SANCHES, A. C.C.; MELLO, J. C.P. de. Using Cell Cultures for the Investigation of Treatments for Attention Deficit Hyperactivity Disorder: a systematic review. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 10, p. 916-925, 13 set. 2019.

OLIVEIRA, M. C. B. de; CRUZ, C. K. S.; ROCHA, G. M. de M.; BRITO, M. G. A.; OLIVEIRA, G. A. L. de. Toxicidade e atividade antibacteriana de plantas medicinais utilizadas no tratamento de doenças respiratórias: revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. 1-29, 16 ago. 2020.

SCALON V. R.; PAULA-SOUZA J.; LIMA A. G.; SOUZA V. C. A synopsis of the genus *Stryphnodendron* (Fabaceae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). **Phytotaxa**, v. 544, n. 3, p. 227-279, 3 maio 2022.

34º Encontro Anual de Iniciação Científica
14º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



12 e 13 de novembro de 2025

ZOCOLER A. M. D.; SANCHES A. C. C.; ALBRECHT I.; MELLO J. C. P.; Antioxidant capacity of extracts and isolated compounds from *Stryphnodendron obovatum* Benth. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 443-452, set. 2009.