

Padronização farmacognóstica das raízes de *Acanthospermum hispidum* DC. (Asteraceae)

Acanthospermum hispidum DC. (Asteraceae) roots' pharmacognostic standartization

Evani de Lemos Araújo¹, Karina Perrelli Randau², Haroudo Satiro Xavier³,
Clébio Pereira Ferreira⁴ & Rejane Magalhães de Mendonça Pimentel⁵

RESUMO – *Acanthospermum hispidum* é um representante da família Asteraceae que ocorre em várias regiões do nordeste do Brasil. Suas raízes são utilizadas como matéria-prima na produção de xarope antiasmático em diversos serviços de saúde pública, sendo amplamente comercializada no Estado de Pernambuco. Este estudo objetivou a padronização das raízes de *A. hispidum*, permitindo o reconhecimento seguro desta espécie. As análises macro e microscópica das raízes, juntamente com a histoquímica, caracterizaram a matéria-prima, complementando com a determinação do teor de cinzas totais, cinzas insolúveis em ácido, determinação da perda por dessecação, testes de pureza e, finalmente, uma prospecção fitoquímica. Os resultados obtidos podem ser utilizados como parâmetros no controle de qualidade de matérias-primas para este fitoterápico.

PALAVRAS-CHAVE – *Acanthospermum hispidum*, espinho-de-cigano, controle de qualidade, fitoterápicos.

SUMMARY – *Acanthospermum hispidum* is a representative of the Asteraceae family that occurs in arid regions of Brazil Northeastern and is used as folk medicine like anti-asthma syrup in several public health activities and is widely commerce in Pernambuco State. This study aimed to root standard of *A. hispidum* and its safety recognition. The macro and microanalysis of the roots with the histochemistry characterized the prime-matter, complementing with the total ash determination, insoluble ash in acid, the lack determination by dissections, purity tests and finally, a phytochemistry prospecting. The results obtained can be used as parameters to the quality control of prime-matters to this phytoterapic.

KEYWORDS – *Acanthospermum hispidum*, espinho-de-cigano, quality control, phytoterapics.

INTRODUÇÃO

Os "produtos naturais" têm sido cada vez mais comercializados como medicamentos formais ou informais e são oferecidos à população com indicações, vez por outra, muito contraditórias. O distanciamento criado entre a expansão do mercado e a legislação pertinente tem dado margem a uma interminável batalha entre os fabricantes desses produtos e a Vigilância Sanitária. Isto permite que as pessoas fiquem vulneráveis à falta dos medicamentos, ou, o que é pior, aos riscos do consumo de produtos de má qualidade ou de qualidade duvidosa.

O controle de qualidade é indispensável para o uso seguro e eficiente de medicamentos à base de plantas medicinais e muitos dos estudos se restringem à verificação dos conteúdos de cápsulas (e.g. Zarbielli *et al.*, 2006), sem assegurar a identificação botânica da matéria-prima. Este fato é reconhecido para muitas espécies da família Asteraceae (Budell *et al.*, 2004).

No final da década de 80 teve início em alguns

programas de fitoterapia do Serviço Público do Estado de Pernambuco, o emprego de um xarope preparado com as raízes de *Acanthospermum hispidum* DC. (Asteraceae), conhecida popularmente como *espinho-de-cigano*. Apesar de seu uso consagrado, ainda hoje esses produtos não atendem às exigências mínimas da ANVISA no que diz respeito ao controle de qualidade e na comprovação da segurança e eficácia.

Apesar da popularidade da planta, causou surpresa que os primeiros casos acompanhados de portadores de asma brônquica, tratados com o xarope, mostrassem excelentes resultados, despertando o interesse no desenvolvimento de mais estudos, uma vez que se trata de uma das doenças mais incidentes na infância, chegando a representar o terceiro maior gasto (em torno de 70 milhões de reais) para o Sistema Único de Saúde – SUS (Rizzo & Pitanga, 2003).

O presente estudo objetiva a padronização das raízes de *Acanthospermum hispidum*, identificando caracteres diagnósticos que permitam o reconhecimento seguro desta espécie amplamente comercializada há quase duas décadas no Estado de Pernambuco, con-

Recebido em 04/5/2007

¹Médica, Doutoranda em Ciências Farmacêuticas, Laboratório de Farmacognosia, UFPE
Rua Prudente de Moraes, 352. Carmo, Olinda/PE. 53020-140. Tel.: (05581)3429-0434

²Farmacêutica, Dra. em Ciências Naturais, Laboratório de Farmacognosia, UFPE

³Farmacêutico, Prof. Dr. em Ciências Farmacêuticas e Biológicas, Laboratório de Farmacognosia, UFPE

⁴Biólogo, Mestrando em Botânica, Laboratório de Fitor morfologia Funcional, UFRPE

⁵Bióloga, Prof. Dra. em Botânica, Laboratório de Fitor morfologia Funcional, UFRPE

tribuindo desta forma, com dados concretos para o controle de qualidade.

MATERIAL E MÉTODOS

• Droga vegetal

Amostras de plantas de *A. hispidum* foram coletadas nos canteiros de cultivo de plantas medicinais do Laboratório de Fitoterapia da Prefeitura Municipal de Olinda (PE). O material testemunho foi depositado no Herbário Dárdano de Andrade Lima, da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA – 73350).

• Análise macroscópica e microscópica do pó da raiz

A caracterização macro e microscópica das plantas foi realizada utilizando-se material fresco e fixado em FAA 50 (formaldeído, ácido acético, etanol, água, 5:5:45:45).

Lâminas semipermanentes foram confeccionadas de macerados obtidos de fragmentos de raiz com aproximadamente 1cm de comprimento e imersos em uma mistura de ácido crômico e ácido nítrico na proporção de 1:1. Os fragmentos foram mantidos nessa solução por um período de 24h e a solução foi trocada toda vez que se tornava escura. As amostras foram lavadas em água destilada sucessivas vezes e lavadas em solução de álcool a 50% e coradas com safranina alcoólica a 1% em etanol a 50% por 24h. Em seguida foram lavadas três vezes em etanol a 30% para a retirada do excesso do corante. O material macerado foi montado em glicérina aquosa a 60% (Kraus & Arduim, 1997).

Uma amostra de macerado foi utilizada para realizar medições do comprimento e largura dos principais elementos celulares, como vasos de xilema, fibras e células de parênquima de ao menos três indivíduos.

Observações e análises foram feitas em imagens digitais e o programa de análise de imagens, Image Tool (Wilcox *et al.*, 2002). As barras foram determinadas de imagens de uma lamina micrometrada nas mesmas condições das imagens dos cortes da planta.

• Análise histoquímica

Secções transversais da raiz, caule e região mediana da lâmina foliar foram utilizadas para as análises histoquímicas. Alcalóides foram testados com reagente de Wagner (Furr & Mahlberg, 1981), amido com lugol (Johansen, 1940), compostos fenólicos gerais com cloreto férrico (Johansen, 1940), lignina com floroglucina ácida (Kraus & Arduim, 1997) e lipídeos, cutina e suberina com Sudan III (Sass, 1951) e proantocianidinas (taninos) com vanilina clorídrica (Ricco *et al.*, 2002).

A verificação da presença de iridóides foi feita com vanilina sulfúrica (Wagner, 1996, modificado). Fragmentos frescos de raiz, cortados à mão livre, foram colocados em uma lâmina e secados em papel absorvente para eliminação do excesso de água. Uma mistura de vanilina a 2% em etanol e ácido sulfúrico em solução alcoólica a 5% na proporção de 1:1 (Wagner, 1996). Os fragmentos foram mantidos entre lâmina e lamínula e levados à estufa a 100°C por um período de 5min, seguida de observação em microscópio óptico.

A cor produzida na lâmina foi fotografada em diferentes aumentos usando câmera digital (Sony W5) e microscópio óptico (Olympus).

• Prospecção fitoquímica

Para a prospecção fitoquímica, amostras com 1g de

casca das raízes foram submetidas à extração metanólica (20mL). Alíquotas de 10 μ L foram analisadas por cromatografia em camada delgada (placas de gel de sílica Merck/Alemanha, Art.105554) para análise da presença de grupos de metabólitos, empregando-se diversas fases móveis e reveladores específicos (Harbone, 1984; Wagner & Bladt, 1996; Xavier *et al.*, 2002; Senna Filho *et al.*, 2006).

• Testes de pureza

Nos testes de pureza, as determinações da perda por dessecação, do teor de cinzas totais e de cinzas insolúveis em ácido foram realizadas segundo a Farmacopéia Brasileira IV (2000).

• Determinação da perda por dessecação

A determinação da perda por dessecação foi feita em três amostras de 3g de droga vegetal em pesa-filtro, previamente pesado, as quais foram colocadas em estufa a 105°C por 2h, resfriadas em dessecador por 30 min e repetindo-se o processo até peso constante.

• Teor de cinzas totais

Para a determinação do teor de cinzas totais, três amostras de 3g da droga vegetal foram acondicionadas em cadinhos de porcelana previamente pesados e carbonizadas em mufla a 400°C por 4-5h, resfriadas em dessecador e pesadas até a obtenção de valor constante. Calculou-se o teor de cinzas totais pela diferença entre o peso do conjunto cadinho e amostra, antes e após a incineração.

• Cinzas insolúveis em ácido

A determinação das cinzas insolúveis em ácido foi realizada em 25mL de ácido clorídrico a 10% em cadinho contendo resíduos das cinzas totais, fervidos por 5min, filtrado duas vezes em papel de filtro com tarja preta. Após lavagem do papel de filtro com água fervente até obter pH neutro, acondicionou-se o papel de filtro em um segundo cadinho *tarado* e pesado. Carbonizou-se a 100°C na mufla por 4-5h até peso constante, resfriou-se no dessecador e pesou-se o cadinho.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Acanthospermum hispidum é uma planta anual, ereta, com caule e folhas densamente pubescentes, chegando a atingir até 1m de altura. Tem sistema radicular ramificado, apresentando uma raiz principal que chega a atingir 20cm de comprimento. Esse conjunto desprende aroma suave, característico, levemente adocicado, logo após a coleta. O caule apresenta muitos pêlos, as folhas são simples e opostas, medindo em média 6x3cm e têm sabor amargo. As inflorescências são axilares, em capítulos, com pequenas flores amarelas. Os frutos são do tipo aquênio, de forma triangular, compridos, recobertos por cerdas irregulares, que lhes confere vários dos outros nomes populares, entre os quais, carrapicho-de-carneiro ou carrapicho-de-três-pontas (Aranha *et al.*, 1982; Corrêa, 1978; Lorenzi, 1982; Coimbra, 1994).

Diferentes indivíduos de *Acanthospermum hispidum* se mostraram semelhantes, mesmo quando crescendo sob diferentes condições ambientais, o que facilita seu adequado reconhecimento por ocasião da coleta de matéria-prima.

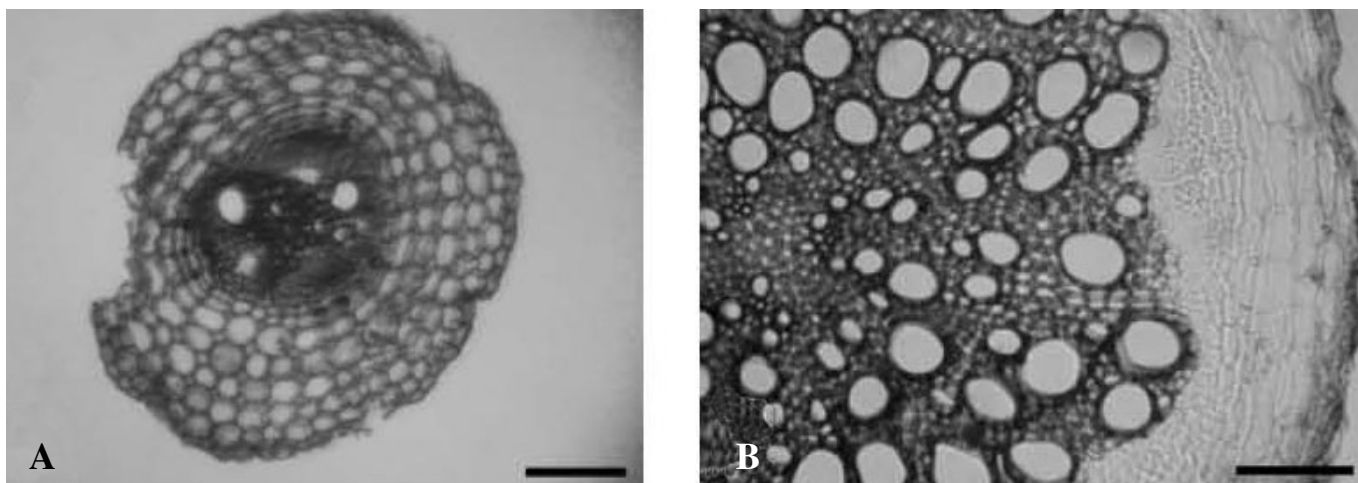


FIG. 1 - Vista transversal da raiz de *Acanthospermum hispidum* A. Chev. (Asteraceae): A. Estrutura primária. B. Estrutura secundária. Barras: A: 100μm; B 100μm.

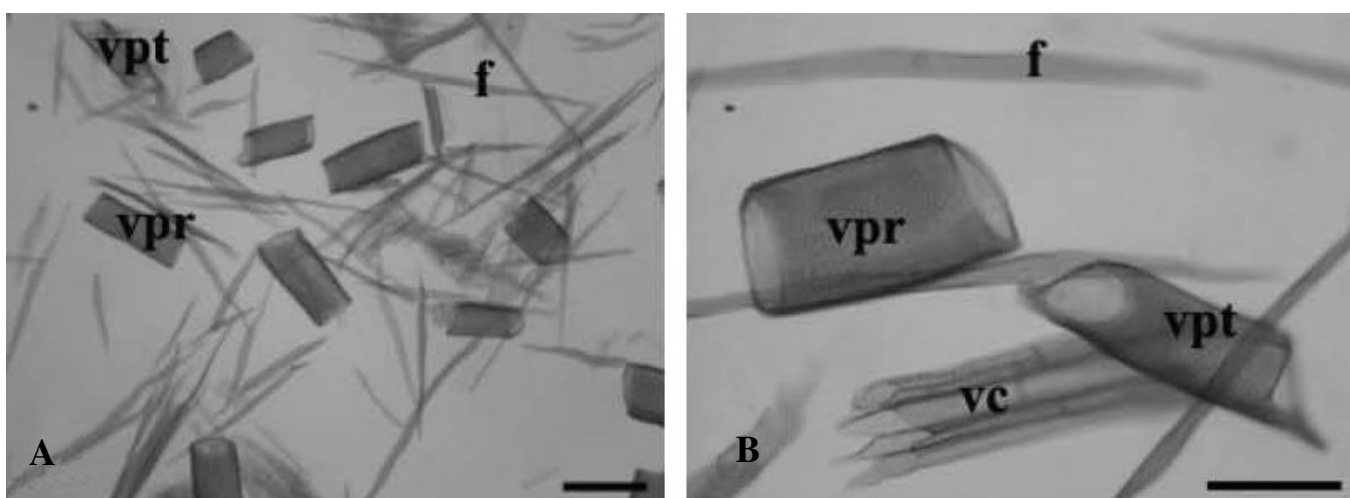


FIG. 2 - Macerado de raiz de *Acanthospermum hispidum* A. Chev. (Asteraceae): A: fibras (f) alongadas típicas, vasos com paredes terminais tangenciais (vpt) com expansões curtas, vasos de xilema com paredes terminais retas (vpr). B: vasos curtos (vc) com paredes terminais tangenciais, vasos de xilema com paredes terminais retas (vpr), fibras (f) alongadas típicas e vasos com paredes terminais tangenciais (vpt). Barras: A: 200 μm, B: 100μm.

Em vista transversal, a raiz mostrou contorno cilíndrico (Fig. 1A). Em estrutura primária, a raiz é do tipo tetarca e, em estrutura secundária, está revestida por periderme (Fig. 1B); o córtex é constituído por células parenquimáticas arredondadas e a região medular por células de xilema. Em ambas as estruturas, as células da endoderme mostram estrias de Caspary sem espessamento em "U".

O macerado da raiz (Fig. 2A, B) mostrou tipos celulares comuns com algumas particularidades. Foi abundante a presença de fibras alongadas longitudinalmente e três tipos de células de xilema:

- tipo 1- vasos com ambas as paredes terminais retas de comprimento variado;
- tipo 2- vasos com uma parede terminal reta e a outra transversa sem prolongamentos e;
- tipo 3 - vasos com paredes terminais tangenciais com prolongamentos.

As células de parênquima se mostraram alongadas.

Os diferentes tipos celulares caracterizados no macerado apresentaram valores de comprimento e largura variáveis (Tab. I). Os vasos de xilema do tipo 1 apresentam células mais longas (252,05μm) e células mais

curtas (142,03μm) com valores médios de largura muito semelhantes (110,96 e 102,68μm, respectivamente).

As informações disponíveis na literatura acerca da morfologia e anatomia de espécies de *Acanthospermum* não são relativas à raiz.

Destacam-se os estudos de Felipe & Alencastro (1966), relativos à nervação foliar e o de Filizola *et al.* (2003) tratando da anatomia dos órgãos vegetativos de *Vernonia brasiliensis*.

Martins *et al.* (2006) estudou a anatomia do caule e folha de *A. australe*.

Em se tratando das características do pó da droga e histoquímica das principais classes de metabólitos, não foram encontrados registros para nenhuma espécie de *Acanthospermum*. Em consequência disto, as informações da morfologia, anatomia, pó da droga e histoquímica de indivíduos de *A. hispidum* são inéditas.

Os testes histoquímicos confirmaram a presença de amido, identificados pela coloração azul enegrecida nas células do parênquima cortical. Compostos fenólicos foram detectados nas células do súber pela coloração negro-azulada. Lignina foi marcada de vermelho nos elementos de condução do xilema e nas fibras. A au-

TABELA I
Valores médios de comprimento (μm) e largura (μm) de tipos celulares presentes nas raízes de *Acanthospermum hispidum* obtidos por maceração

Tipos celulares	Comprimento μm	Largura μm	
Fibras	609,70	19,57	
Parênquima	81,45	24,79	
Vasos do xilema			
Tipo 1	Longas	252,05	110,96
	Curtas	142,03	102,68
Tipo 2	502,35	149,84	
Tipo 3	304,02	73,42	

Vasos do xilema: Tipo 1. paredes terminais tangenciais, Tipo 2. uma parede terminal reta e a outra tangencial, Tipo 3. paredes terminais tangenciais com prolongamentos

sência de coloração específica indicou a ausência de iridóides, alcalóides, lipídeos, cutina e suberina, além das proantocianidinas (taninos) nas células da raiz.

A prospeção fitoquímica evidenciou a presença de um elevado teor de mono e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides, açúcares redutores, flavonóides, fenilpropanóides, e derivados cinâmicos nas raízes do vegetal. Permitiu ainda, a identificação dos esteróides β -sitosterol e stigmasterol e derivados do ácido caféico. Não foram detectados alcalóides, saponinas, cumarinas, taninos hidrolizáveis, proantocianidinas condensadas nem leucoantocianidinas.

Todos os testes de pureza realizados ficaram dentro das normas preconizadas pela Farmacopéia Brasileira e WHO (1998). No ensaio da perda por dessecação, o resultado obtido (11%) encontra-se dentro do valor recomendando para raízes - 8 a 14%, reduzindo o ataque por fungos, bactérias e enzimas (Oliveira *et al*, 1998). Em relação ao teor de cinzas o percentual foi de 8,21% e o teor de cinzas insolúvel em ácido clorídrico de 0,37%.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos podem ser empregados como parâmetros no controle de qualidade de matérias-primas para fitoterápicos. Visando fornecer subsídios para o controle de qualidade desse produto, a matéria-prima da raiz de *Acanthospermum hispidum* deve ser verificada quanto à presença dos três tipos de células de xilema:

tipo 1- vasos com ambas as paredes terminais retas de comprimento variado;

tipo 2- vasos com uma parede terminal reta e a outra transversa sem prolongamentos e;

tipo 3- vasos com paredes terminais tangenciais com prolongamentos.

A presença de inúmeras lactonas sesquiterpênicas se mostra promissora para uso como marcadores fitoquímicos. Os testes farmacopéicos contribuem para a especificação da droga vegetal garantindo uma padronização do fitoterápico.

REFERÊNCIAS

- Aranha, C.; Bacchio, O.; Leitão Filho, H F. *Plantas Invasoras de Culturas*. São Paulo: HUCITEC/Min. da Agricultura/Agriplan – BID, v. 2, 1972.
- _____. Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução – RDC nº 48 de 16/03/2004. Dispõe sobre o registro de fitoterápicos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 2004.
- Budel, J.M.; Duarte, M. do R.; Santos, C.A. de M.; Farago, P.V. Morfoanatomia Foliar e Caulinar de *Baccharis dracunculifolia* DC., Asteraceae. *Acta Farm Bon*. 2004. 23: 477-83.
- Coimbra, R *Manual de Fitoterapia*. 2. ed. Belém: CEJUP, 1994.
- Corrêa, M. P. *Dicionário das Plantas Úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Nacional, Reimpressão MEC/IBAMA, v.6. 1926.
- _____. Farmacopéia Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.
- Felipe, G. M.; Alencastro, F. M. M. R. Contribuição ao estudo da nervação foliar das compostas de cerrado. I - Tribos Helinieae, Heliantheae, Inuleae, Mutisieae e Senecioneae. *An Acad Bras Cienc*. 1966. 38: 125-158.
- Filizola L. R. S.; Pimentel R. M. M.; Randau, K. P.; Xavier, H. S. Anatomia dos órgãos vegetativos de *Vernonia brasiliana* (L.) Druce. *Acta Farm Bon*. 2003. 22: 299-303.
- Furr, M.; Mahlberg, P. G. Histochemical analysis of laticifers and glandular trichomes in *Cannabis sativa*. *J Nat Prod*. 1981. 44: 153-159.
- Harbone, J. B. *Phytochemical methods*. 3rd ed. London: Chapman & Hall, 1998.
- Johansen, D. A. *Plant microtechnique*. New York: McGraw Hill Book, 1940.
- Kraus, J. E.; Arduim, M. *Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal*. Rio de Janeiro: Edur, 1997.
- Lorenzi, H. *Plantas Daninhas do Brasil*. Nova Odessa/SP: Edição do Autor, 1982.
- Martins, L. R. R.; Mourão, K. S. M.; Albiero, A. L. M.; Cortez, D. A. G.; Dias-Filho, B. P.; Nakamura, C. V. Estudo morfoanatômico preliminar do caule e da folha de *Acanthospermum australe* (Loefl.) Kuntze (Asteraceae-Heliantheae). *Rev.Bras. Farmacogn*.2006. 16: 42-52.
- Oliveira, F.; Akisue, G.; Akisue, M. K. *Farmacognosia*. São Paulo: Atheneu, 1998.
- Ricco, R.A. Sena, G.A. Vai, V.M. Wagner, M.L. Gurin, A. A. Taninos Condensados de *Ephedra chilensis* K. Presl (= *E. Andina* Poepp. Ex May.) – Ephedraceae. *Dominguezia* 2002.18: 17-25.
- Sass, J. E. *Botanical Microtechnique*. 2nd ed. Ames, Iowa: The Iowa State College Press, 1951.
- Sena-Filho, J. G.; Melo, J. G. S.; Saraiva, A. M.; Gonçalves, A. M.; Psiottano, M. N. C.; Xavier, H. S. Antimicrobial activity and phytochemical profile from the roots of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown. *Rev.Bras. Farmacogn*.2006. 16: 506.
- Wagner, H.; Bladt, S. *Plant drug analysis – A thin layer chromatography atlas*. 2nd ed. Munich: Springer, 1996.
- _____. World Health Organization. *Quality control methods for medicinal plant materials*. Geneva: WHO, 1998.
- Xavier, H.S.; Randau, K.P.; Barreto, L. C. L.S.; Araújo, E.L. Contribuição à caracterização dos taninos hidrolizáveis. In: Congresso Nacional de Botânica, 53. 2002, Recife. *Resumos*, Recife: Sociedade Brasileira de Botânica. 2002. p. 20.
- Zarbielli, M. G.; Macedo, S. M. D.; Mendez, A. S. L. Controle de qualidade de cápsulas de piroxicam manipuladas em farmácias do município de Erechim, RS. *Rev. Bras. Farm*. 2006 87: 55-59.

Endereço eletrônico
Evani de Lemos Araújo
e-mail: evani@hotmail.com.br