



Controle de qualidade físico-químico e legalidade de matéria-prima vegetal e produto acabado contendo ipê-roxo (*Tabebuia sp.*)

Physicochemical quality control and legality of drug material and market product from *Tabebuia sp.*

Recebido em 17/06/2009

Aceito em 21/04/2011

Alan Lucena de Vasconcelos, Evanilson Alves Feitosa, Márcia Maria Barbosa da Silva, Haroudo Satiro Xavier, Karina Perrelli Randau*

Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil

RESUMO

Ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*, sin. *Tabebuia avellanedae*), também conhecido como Pau d'arco, é uma árvore de copa com flores rosadas ou roxas encontradas em florestas tropicais da América do Sul. Durante a década de 1960, atraiu considerável atenção no Brasil e Argentina, como uma "droga milagrosa" para o tratamento do câncer. Estudos científicos atribuem a propriedade antineoplásica ao lapachol, uma naftoquinona encontrada no cerne do vegetal. Para este trabalho, foram avaliados os aspectos legais, tais como análise de rótulos e embalagens, registro no Ministério da Saúde, além de ensaios físico-químicos por meio de testes específicos para averiguação da presença do princípio ativo e controle de qualidade (RDC 14, março de 2010; RDC 71, dezembro de 2009; RDC 47, setembro de 2009), com a finalidade de assegurar a qualidade de matéria-prima e produtos acabados com *Tabebuia sp.* comercializados em Recife-PE, tendo em vista sua alta toxicidade e ampla distribuição no mercado. Os resultados mostram que diversos produtos não trazem as informações necessárias nem se enquadram nas diretrizes da legislação pertinente. Nos testes físico-químicos todas as amostras demonstram ausência do princípio ativo responsável pela atividade farmacológica. Denota-se, portanto, que se faz necessária uma investigação constante para prevenir a comercialização de produtos de má qualidade que comprometam a saúde e segurança do consumidor.

Palavras-chave: Padronização, controle da qualidade, *Tabebuia sp.*

ABSTRACT

Tabebuia impetiginosa (sin. *Tabebuia avellanedae*), popularly known as ipe-roxo and Pau d'arco is a canopy tree with pink or purple flowers found in tropical forests of South America. During the 1960s, this plant attracted special attention in Brazil and Argentina, as a "miracle drug" for the treatment of cancer. Scientific studies have attributed the anticancer property for the lapachol, a naphthoquinone found in the heartwood of the plant. In this work we assessed the legal aspects, such as analysis of labels and packaging, registration in Health Ministry, as well as physicochemical specific tests to check the presence of the active components and quality (RDC 14, march 2010; RDC 71, december 2009; RDC 47 september 2009) in the view of ensure the authenticity of drug materials and market products obtained from *Tabebuia sp.* sold in Recife-PE, due to its high toxicity and wide distribution in the popular markets. The results show that many products do not provide the necessary information or fall into the guidelines of the relevant legislation. In physicochemical tests all samples show absence of the active principle responsible for pharmacological activity. It seems, therefore, that an investigation is necessary to prevent the constant selling of products with poor quality that undertake the health and safety of costumers.

Keywords: Standardization, quality control, *Tabebuia sp.*

INTRODUÇÃO

O ipê-roxo (*Tabebuia impetiginosa*, sin. *Tabebuia avellanedae*), também conhecido como Pau d'arco, é uma

Pantanal, e é freqüente em matas semidecíduas e cerrado (Salis & Crispin, 2006). Durante a década de 1960, atraiu

* **Contato:** Karina Perrelli Randau, Laboratório de Farmacognosia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, CEP: 50740-521, Recife, Pernambuco, Brasil, Telefone/Fax 81-21268511, e-mail: karina.prandau@ufpe.br

considerável atenção no Brasil e Argentina, como uma "droga milagrosa" para o tratamento do câncer. Tradicionalmente utiliza-se a entrecasca da árvore em decocção contra infecções bacterianas e fúngicas, febre, sífilis, malária, tripanossomíase, bem como dor de estômago e distúrbios da bexiga (Gonçalves et al., 1980; Suffnes & Douros, 1980; Anesini & Pérez, 1993; Guiraud et al., 1994; Foster, 1999; Mans et al., 2000; Portillo et al., 2001; Santos et al., 2004; Cragg & Newman, 2005).

Em 1873, o médico, Dr. Joaquim Almeida Pinto, descreveu muitas das propriedades terapêuticas do Lapachol: "Pau D'Arco - Propriedades medicinais - prescrito para reduzir febre, a casca é usada contra úlceras, também utilizado para complicações venéreas, reumáticas e especialmente úteis para problemas de pele, especialmente eczema, herpes e sarna" (Mowrey, 2001).

Em 1967, uma reportagem na revista O Cruzeiro relatava casos de curas "milagrosas" em pacientes hospitalizados com câncer. Diversos estudos também tiveram iniciativa na década de 60 quando o National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos sistematicamente começou a pesquisar extratos de plantas em todo o mundo à procura de compostos ativos contra o câncer e a *Tabebuia impetiginosa* recebeu considerável destaque (Castellanos et al., 2009).

Dois principais componentes ativos biologicamente foram isolados de *Tabebuia impetiginosa*: lapachol e β -lapachona (figura 1). O lapachol (2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona, conhecido desde 1858, foi um dos primeiros compostos isolados de *T. impetiginosa*, sendo a quinona mais abundante em Bignoniaceae (Thomson, 1971). A β -lapachona (3,4-dihidro-2,2-dimetil-2H-naftol[1,2-b]pirano-5,6-diona, assim como lapachona, é um isômero do lapachol, obtida inicialmente a partir do lapachol por tratamento com ácido. Posteriormente sua ocorrência foi descrita em diversas espécies de *Tabebuia* (Thomson, 1971; Oliveira et al., 1993). Outros constituintes também foram isolados do ipê-roxo, tais como lapacholmetileter, manaquinona-1, desoxilapachol, lapachenol, 2-Acetil-furanonaftaquinona, 8-hidróxi-2-acetil-furanonaftaquinona, 2,3-diidro-2-(2-metiletenil)-furanonaftaquinona, dentre outros localizados no cerne e entrecasca da planta (Steinert et al., 1995).

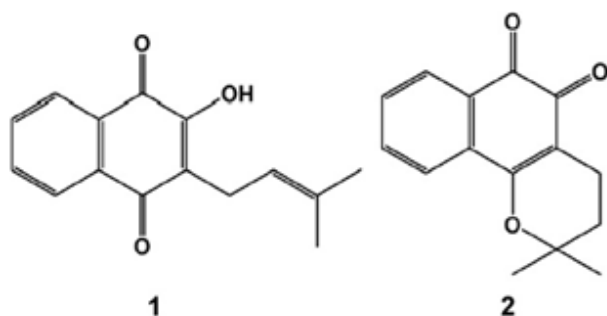


Figura 1. Estrutura química do Lapachol (1) e β -Lapachona (2)

Ao contrário de outras drogas anticâncer do tipo benzantraquinona, que estimulam a peroxidação lipídica dependente de NADPH via enzima redutase microssômica citocromo P-450, o lapachol provoca a inibição deste

citocromo por um mecanismo ainda desconhecido (Mimnaugh et al., 1982).

Estudos de ação antimicrobiana do lapachol foram feitos inicialmente por Lima (1956) e atribuída mais tarde aos derivados da naftoquinona, se traduzindo como moderada contra microrganismos Gram-positivos, ácido resistentes e bastante relevante contra representantes do gênero *Brucella* e de *Neisseria catarrhalis*, revelando-se também esquistosomicida (Lima et al., 1956).

Os estudos desenvolvidos por Hartwell em 1967 mostraram uma alta atividade antineoplásica do lapachol (86% de inibição), sobre o Sarcoma de Yoshida (Santana & Silva, 1981). A substância purificada mostrou-se menos ativa do que o extrato bruto da planta, sugerindo um sinergismo de ações com outros componentes presentes (Sandoval et al., 1996).

No Brasil, o lapachol é comercializado sob forma de cápsulas gelatinosas indicadas para pacientes portadores de várias neoplasias malignas e como recurso auxiliar na quimioterapia (Alves, 2004). A casca do caule do ipê-roxo ou Pau d'Arco Roxo possui uso popular difundido, principalmente, em Pernambuco, talvez por ter sido o berço de diversas pesquisas que introduziram o lapachol na terapêutica (Araújo et al., 2002). Neste contexto foi efetuada a avaliação farmacognóstica da matéria-prima vegetal e produtos acabados contendo ipê-roxo e comercializados em diversas casas de produtos naturais, farmácias e pontos avulsos da cidade de Recife-PE, com a finalidade de assegurar a qualidade e segurança aos usuários, tendo em vista sua alta toxicidade e ampla distribuição no mercado.

MATERIAL E MÉTODOS

Sete amostras contendo ipê-roxo foram adquiridas na cidade de Recife-PE em mercados varejistas: três amostras de produtos acabados (cápsulas) e quatro amostras de matéria-prima vegetal (casca do caule). Foram avaliadas questões legais, tais como o registro do produto e da empresa, rotulagem e adequação das embalagens primárias e secundárias, rotulagem, panfletos informativos e informações necessárias ao paciente para uso correto do produto, quando disponibilizados, foram baseados nas exigências e obrigatoriedades da legislação brasileira RDC 71, dezembro de 2009, e os parâmetros farmacognósticos das amostras foram realizados de acordo com a RDC 14, março de 2010.

Perda por Dessecação

Cerca de 2,0 g de cada amostra (pesada e pulverizada) foram dispostos em cápsula de porcelana previamente tarada e dessecados em estufa a 100-105 °C (durante 2 horas). Em seguida, as amostras foram deixadas em dessecador até atingirem a temperatura ambiente (25 °C), e pesadas. Esta operação foi repetida até a obtenção de peso constante (Farmacopéia brasileira, 1998). A análise foi realizada em triplicata e os resultados expressos pela média das três determinações.

Determinação de Cinzas Totais

Foram pesados cerca de 2,0 g de cada amostra pulverizada, em cadinhos previamente calcinados, resfriados e pesados. As amostras foram distribuídas

uniformemente nos cadinhos e incineradas em mufla a 450 °C durante 4 horas. Os cadinhos foram resfriados em dessecador e pesados até a obtenção de peso constante (Farmacopéia brasileira, 1998). Calculou-se o teor de cinzas totais pela diferença entre o peso do cadinho vazio antes da incineração e o peso do cadinho com a mostra após a incineração. A análise foi realizada em triplicata.

Obtenção de extratos

Cerca de 2,0 g das amostras previamente pulverizadas foram transferidos para um erlenmeyer e extraídos com 10 ml de metanol sob aquecimento por 10 minutos.

Microsublimação

Através de microsublimação, procurou-se detectar a presença de lapachol e definir o perfil fitoquímico das amostras. Foram utilizadas 7 amostras de matérias-primas e produtos acabados, além de um padrão autêntico de lapachol.

Empregou-se o procedimento de microsublimação clássico no qual se intercala um anel de aço inoxidável contendo alíquotas das amostras devidamente pulverizadas, entre duas lâminas para microscopia e o conjunto é submetido a um aquecimento (Costa, 1972). O aquecimento do material foi realizado em placa aquecedora elétrica (120°C), sob pressão atmosférica, obtendo-se um sublimado na forma de cristais laminares amarelados. Posteriormente os cristais foram solubilizados em metanol e submetidos à cromatografia em camada delgada (D'albuquerque, 1968).

Cromatografia em camada delgada (CCD)

As análises cromatográficas foram efetuadas empregando-se placas prontas de gel de sílica (Merck-Alemanha, art. 105554), tendo como fase móvel a mistura éter de petróleo: benzeno: metanol (80:20:1, v/v), revelando-se a placa para obtenção do perfil cromatográfico com solução metanólica de KOH a 10% (p/v), empregando como padrão autêntico o lapachol (obtido do Departamento de Antibióticos - Instituto Oswaldo Gonçalves de Lima, na Universidade Federal de Pernambuco) (D'albuquerque, 1968), e uma amostra original de *Tabebuia* sp., (identificada por comparação com amostras de exsicatas do Herbário UFP- Geraldo Mariz., onde uma amostra foi depositada sob o número 65713).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O controle de qualidade de um produto envolve várias etapas que abrangem desde a obtenção da matéria-prima, incluindo todo o processo de produção, até a análise do produto final (Bacchi, 1996). Segundo Farias (2001), a qualidade da matéria-prima não garante a eficácia do produto, mas é fator determinante da mesma.

Com relação aos parâmetros avaliados nos rótulos e embalagens, pôde-se observar que nas amostras de matéria-prima, apenas uma apresentou a descrição de posologia, enquanto que nas de produto acabado (cápsulas) todas apresentaram. Dentre as três amostras de cápsulas, duas apresentavam contra-indicação e uma especificava indicação terapêutica, conforme Tabela 1. Estes dados são

relevantes face à legislação vigente no Brasil, que regulamenta rótulos de produtos fitoterápicos RDC 71, dezembro de 2009, exigindo que na embalagem do produto esteja em caixa alta e tamanho de letra de 30% do nome de marca do produto o texto "FITOTERÁPICO", procedimento que não foi respeitado por nenhum dos produtos acabados, os quais apresentando posologia e indicação terapêutica, deveriam se enquadrar na categoria de medicamentos fitoterápicos.

Tabela 1. Avaliação de parâmetros legais

Parâmetros	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
Estado	NA	NA	NA	NA	SP	NA	SP
Preço (R\$)	1,00	2,00	0,50	2,00	8,00	10,00	13,00
Composição	CC	CC	CC	CC	ES 100 %	ES 300 mg	ES 350 mg
Posologia	NA	NA	NA	Chá (decocto) 3 xícaras/ dia	1 cps 2x dia	3 cps 1x dia	2 cps 3x dia
Contra-indicação	NA	NA	NA	NA	A	A	NA
Lacre de Segurança	NA	NA	NA	NA	A	A	A
Indicação terapêutica	NA	NA	NA	A	NA	NA	A
Lote	NA	NA	NA	NA	A	A	A
Quantidade Produto acabado (g)	NA	NA	NA	NA	50 cps 350 mg	50 cps 300 mg	50 cps 350 mg
Nº do Registro*	NA	NA	NA	NA	A	A	A
Prazo de Validade	NA	NA	NA	NA	2 anos	2 anos	3 anos
SAC	NA	NA	NA	NA	A	A	A
Sítio internet	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Informações Nutricionais	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Responsável Técnico	NA	NA	NA	NA	A	NA	A

A = Apresenta; NA = Não Apresenta; CC = Casca do caule; ES = Extrato seco de ipê-roxo; cps = Cápsulas; * = Ministério da Saúde/ ANVISA

Por não existir padrão farmacopéico da droga vegetal estudada, foram realizados os testes de cinzas totais e umidade, segundo as recomendações da Farmacopéia Brasileira (1998), que estabelece uma faixa limite de 8 a 14% de umidade residual para drogas vegetais. Desta forma, duas das amostras estavam fora do padrão conforme Tabela 2. Esse dado é fator significativo, pois irá influenciar no processo de conservação, que se aliado ao armazenamento adequado, manterá a qualidade da espécie vegetal, estabilidade e preservação de suas propriedades terapêuticas.

A determinação de cinzas totais é destinada a estabelecer a quantidade de substância residual não-volátil, incluindo aquelas oriundas do tecido vegetal (cinzas fisiológicas) e de materiais estranhos. A Farmacopéia Brasileira (1998) estabelece um limite de 10% para garantir que não haja contaminantes adulterando a amostra. Desta forma, todas as amostras apresentaram valores adequados.

A partir das análises cromatográficas, constatou-se que nenhuma das amostras de matéria-prima vegetal apresentou o lapachol, substância considerada princípio ativo e marcador para matéria-prima derivada de *Tabebuia* sp. Tal ausência na matéria-prima vegetal deve-se ao fato de que é comercializada a casca (alburno), enquanto o lapachol está presente no cerne. Quanto às cápsulas, apesar delas apresentarem um perfil cromatográfico muito

parecido entre si, indicando o uso de matéria-prima semelhante, também foi observado ausência do princípio ativo; demonstrando que a matéria-prima empregada não provém do cerne do ipê-roxo.

Tabela 2. Avaliação de Parâmetros Físico-químicos

Amostras	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7
Perda por Dessecação	16,00%	9,00%	16,33%	12,00%	6,66%	8,00%	4,66%
Cinzas Totais (mg/g)	0,83%	4,00%	1,16%	2,60%	3,66%	3,35%	3,50%
Microssublimação (CCD)	A	A	A	A	A	A	A

P = Presença de cristais laminares amarelados; A = ausência de lapachol

Estes testes são simples e podem ser facilmente aplicados no controle de qualidade de matéria-prima vegetal e produto acabado contendo *Tabebuia sp.*, permitindo detectar adulterações e evitar a exposição do consumidor ao risco real do uso de material vegetal inadequado (Nunes, 2008).

CONCLUSÕES

O grande interesse da população no ipê-roxo proporciona um aumento no comércio dos produtos derivados do mesmo, ou que apresentam esta planta em sua composição. Entretanto, a falta de informações e o limitado desenvolvimento tecnológico na área de produção de medicamentos fitoterápicos no Brasil vêm comprometendo a real eficácia e a segurança dos produtos utilizados (Nascimento et al., 2005). Apesar de existir por parte dos órgãos reguladores uma crescente preocupação com a qualidade dos produtos fitoterápicos comercializados no país, o mercado destes produtos ainda se desenvolve precariamente (Brasil, 2001). Vale ressaltar que para os produtos em questão observou-se a ausência do princípio ativo em todas as amostras ao lado de uma falta de correspondência da metade dos parâmetros analisados. Os resultados obtidos com esta pesquisa indicam que é preciso não apenas o registro do fitoterápico pelo órgão competente, mas uma investigação constante para prevenir a comercialização de produtos de má qualidade, que levam ao consumidor inúmeros problemas decorrentes de doses subterapêuticas ou mesmo tóxicas.

REFERÊNCIAS

ANVISA Agência Nacional De Vigilância Sanitária. Consulta de Produto. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto_correlato/consulta_correlato.asp> Acesso em dezembro de 2009.

Alves GMC. Desenvolvimento de Cápsula Gelatinosa Mole de β -Lapachona para Terapias Antineoplásicas em Humanos. 2004. Recife. 93 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), UFPE (Universidade Federal de Pernambuco). Recife.

Anesisni C & Pérez C. Screening of plants used in Argentine folk medicine for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* (39): 119–128, 1993.

Araújo EL, Rolim NPJ, Alencar JRB. Lapachol: segurança e eficácia na terapêutica. *Rev. Bras. Farmacogn.* (12): 57–59, 2002.

Bacchi EM. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: Stasi LC. Plantas medicinais: arte e ciência um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Editora da Universidade Estadual Paulista, 1996. Cap. 12, p.169-86.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. O papel da ANVISA na regulação econômica do mercado farmacêutico, maio de 2001.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 333, de 19 de novembro de 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 48, de 16 de março de 2004.

Castellanos JRG. Red Lapachol (*Tabebuia impetiginosa*) - A global ethnopharmacological commodity? *J. Ethnopharmacol.* (1): 1–13, 2009.

Costa AF. Farmacognosia. 3. ed. Lisboa: F. Calouste Gulbenkian, 1972. 1051p.

Cragg GM & Newman DJ. Plants as a source of anticancer agents. *J. Ethnopharmacol.* (100): 72–79, 2005.

D'Albuquerque IL. Termoreação da 2-hidroxi-3-(3-metil-2-butenil)-1,4-naftoquinona. *Revista do Instituto de Antibióticos.* (8): 73-88, 1968.

Farias MR. Avaliação da qualidade de matérias-primas vegetais. In: Simões CMO. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 5. ed. rev. amp. Santa Catarina: Editora da UFSC, 2001. cap. 12, p.199-222.

Farmacopéia Brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1998.

Foster S & Tyler VE. Tyler's Honest Herbal: A Sensible Guide to the Use of Herbs and Related Remedies. 4. ed. Binghamton, NY: The Haworth Herbal Press, 1999.

Gonçalves AM, Vasconcellos ME, Do Campo R et al. Evaluation of the toxicity of 3-allyl-_-lapachone against *Trypanosoma cruzi* bloodstream forms. *Mol Biochem Parasitol.* (1): 167–176, 1980.

Guiraud P, Steiman R, Campos-Takaki GM et al. Comparison of antibacterial and antifungal activities of lapachol and _- lapachone. *Planta Med.* (6): 373–374, 1994.

Lima OG, Albuquerque IL, Machado MP et al. Primeiras observações sobre a ação antimicrobiana do lapachol. *Separata dos Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco.* (14): 129 – 135, 1956.

Mans DRA, Rocha AB, Schwartzmann G. Anti-cancer drug discovery and development in Brazil: targeted plant collection as a rational strategy to acquire candidate anticancer compounds. *Oncologist.* (5): 185–198, 2000.

Mimnaugh EG, Trush MA, Ginsburg E et al. Differential effects of anthracycline drugs on rat heart and liver microsomal reduced nicotinamide adenine dinucleotide

phosphate-dependent lipid peroxidation. *Cancer Res.* (42): 3574-358, 1982.

Mowrey DB. *Ancient Herb, Modern Medicine*. Salt Lake City: Mounstaiswest Institute of Herbal Sciences, 2001.

Nascimento VT, Lacerda EU, Melo JG et al. Controle de qualidade de produtos à base de plantas medicinais comercializados na cidade do Recife-PE: erva-doce (*Pimpinella anisum* L.), quebra-pedra (*Phyllanthus* spp.), espinheira santa (*Maytenus ilicifolia* Mart.) e camomila (*Matricaria recutita* L.). *Planta. Med.* (7): 56-64, 2005.

Nunes LCC, La Roca MF, Randau KP et al. Avaliação das propriedades físico-químicas e aspetos legais de extratos de própolis comercializados no mercado brasileiro. *Rev. Bras. Farm.* 89(1): 59-63, 2008.

Oliveira AB, Raslan DS, Oliveira GG et al. Lignans and naphthoquinones from *Tabebuia incana*. *Phytochemistry*. (34): 1409-1412, 1993.

Portillo A, Vila R, Freixa B et al. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.* (76): 93-98. 2001.

Salis SM, Crispim SMA. Comunicado Técnico 59. Corumbá, MS: Densidades de Árvores Listadas como Ameaçadas de Extinção na Bacia do Alto Paraguai. Embrapa, dez. 2006.

Sandoval NA, Rodríguez C, Poch M et al. Tumores provocados por Metilcolantreno y Lapachol. *Acta physiol. pharmacol. ther. Latinoam.* (46): 257-264, 1996.

Santana CF, Silva AAF. Primeiras observações com o emprego de lapachol em pacientes humanos portadores de neoplasias malignas. *Revista do Intituto de Antibióticos*. (8): 89-94, 1981.

Santos EVM, Carneiro JWM, Ferreira VF. Quantitative structureactivity relationship in aziridiny-1,4-naphthoquinone antimalarials: study of theoretical correlations by the PM3 method. *Bioorg Med Chem.* (12): 87-93, 2004.

Steinert J, Khalaf H, Rimpler M. HPLC Separation and determination of Naphtol [2,3-B]Furan-4,9-Diones and related compounds in extracts of *Tabebuia Avellanadae*. *J. Chromatography*. 2(693): 281-287, 1995.

Suffnes M, Douros JD. Miscellaneous natural products with antitumor activity. In: Cassady JM, Douros JD. *Anticancer Agents Based on Natural Product Models*. New York: Academic Press, 1980. 474p.

Thomson RH. *Naphtaquinones. Naturally Occurring Quinones*. London Academic Press, 1971. 203p.