

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS QUANTITATIVOS APLICADOS À PLANTAS
MEDICINAIS PRESENTES NAS CINCO EDIÇÕES DA FARMACOPEIA
BRASILEIRA**

Litieri Mallmann

Porto Alegre
2012

**EVOLUÇÃO DOS MÉTODOS QUANTITATIVOS APLICADOS À PLANTAS
MEDICINAIS PRESENTES NAS CINCO EDIÇÕES DA FARMACOPEIA
BRASILEIRA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado por Litieri Mallmann junto à Disciplina Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia, como requisito parcial para a obtenção do título de Farmacêutico.

Marina C. Nemitz
Co-orientadora

Prof. Dr. Martin Steppe
Orientador

Porto Alegre
2012

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer de forma especial e sincera à minha co-orientadora Marina Nemitz por toda sua dedicação, amizade, companheirismo e orientação neste trabalho. Seus ensinamentos sempre tão sábios, tanto na minha vida profissional, quanto na vida acadêmica, contribuíram de forma grandiosa para minha formação e serei sempre grata a tudo o que ela me ensinou.

Ao professor Martin Steppe por sua orientação neste trabalho.

Aos colegas da faculdade e futuros colegas de profissão, pois sem eles teria sido muito mais difícil chegar até aqui.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aos professores pelo ensino de qualidade e por contribuírem para minha formação.

Ao meu pai Mauro e meus avós, vó Lecy e vô Neco, por toda a educação e carinho dedicados durante todos estes anos, bem como pelo incentivo ao estudo, o meu eterno agradecimento.

Ao meu namorado Diego que desde sempre me incentivou a buscar o melhor caminho e as melhores escolhas na vida, sendo um dos grandes responsáveis por essa conquista. Agradeço também à família Parizotto que se tornou minha segunda família e com certeza faz parte desta conquista.

Agradeço a Deus por ter conseguido chegar até aqui depois de muita garra, esforço e dedicação.

RESUMO

Evolução dos métodos quantitativos aplicados à plantas medicinais presentes nas cinco edições da Farmacopeia Brasileira

As plantas medicinais constituem matéria-prima vegetal (MPV) para a produção de medicamentos fitoterápicos por indústrias farmacêuticas, as quais devem possuir um setor de controle de qualidade para garantir que os medicamentos cheguem ao consumidor com segurança, qualidade e eficácia. Este setor é responsável pela análise das MPV, que somente poderão ser utilizadas para fabricação de um produto se estiverem de acordo com especificações definidas pelos compêndios oficiais, como a Farmacopeia Brasileira (FB), que atualmente está em sua quinta edição. Existem diversas análises físico-químicas e microbiológicas para garantir a qualidade de uma MPV, porém um dos parâmetros mais importantes a ser determinado é a quantificação dos marcadores químicos das plantas. Para a finalidade de doseamento de substâncias, muitas técnicas analíticas podem ser utilizadas, e a escolha se baseia em qual método irá contemplar requisitos básicos de sensibilidade e especificidade, além de possibilitarem agilidade e simplicidade na sua execução. O objetivo deste trabalho foi observar o avanço tecnológico para doseamento de marcadores químicos de plantas medicinais ao longo das cinco edições da FB, bem como realizar um levantamento das monografias de plantas em sua última edição, relatando nome popular, nome científico, marcador químico e técnica analítica para doseamento, buscando também informações dos métodos quantitativos destas espécies nas demais edições. Os resultados mostraram que houve um aumento no valor percentual de análises quantitativas para as plantas medicinais na FB, pois da primeira até a quinta e atual edição a quantidade passou de 16,19% para 91,66%, respectivamente. Observou-se que técnicas menos precisas como volumetria, gravimetria e método semi-quantitativo tinham grande prevalência nas três primeiras edições, e técnicas mais específicas como espectrofotometria e cromatografia aumentaram seus percentuais nas duas últimas. A determinação de óleo volátil por rendimento de extração sempre esteve presente em todas as edições. No levantamento realizado para as plantas presentes na FB quinta edição, constatou-se que algumas possuem o mesmo método quantitativo entre diferentes edições, e outras apresentaram uma evolução quando em comparação à edições anteriores, e menos de 10% das monografias não apresentaram técnica de doseamento. Pode-se concluir que, de forma geral, houve avanço analítico para técnicas de doseamento de marcadores químicos de plantas medicinais, mostrando uma crescente preocupação da comissão da FB com as análises destas matérias-primas.

PALAVRAS-CHAVE: Farmacopeia, doseamento, marcadores químicos, planta medicinal.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	8
2.1 Objetivo geral	8
2.2 Objetivos específicos	8
3. METODOLOGIA	9
4. REVISÃO DA LITERATURA	10
4.1 Fitoterápicos e sua legislação no Brasil	10
4.1.1 Normatização de fitoterápicos no Brasil	11
4.2 Farmacopeia Brasileira	14
4.2.1 Histórico das edições da Farmacopeia Brasileira	14
4.3 Controle de qualidade em indústrias de fitoterápicos	16
4.3.1 Quantificação de marcadores químicos de MPV	17
4.3.2 Doseamento por Gravimetria	19
4.3.3 Doseamento por Volumetria	20
4.3.4 Doseamento por Espectrofotometria	20
4.3.5 Doseamento por Cromatografia	21
4.3.6 Métodos semi-quantitativos para plantas	23
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
6. CONCLUSÕES	39
7. REFERÊNCIAS	40

1. Introdução

A medicina tradicional por base de plantas medicinais é utilizada em todas as partes do mundo desde os primórdios da existência humana. O seu benefício ocorre devido à presença de metabólitos primários e secundários produzidos pelas plantas, que exercem diferentes ações sobre o organismo (SIMÕES *et al.*, 2003).

Devido aumento de estudos científicos para comprovação de atividades biológicas atribuídas à plantas, vem sendo visível o aprimoramento desta medicina nos últimos anos. Tal situação representa um fator importante na saúde e economia de um país, pois além do seu uso popular, as plantas estão sendo utilizadas como matéria-prima para produção de medicamentos (KLEIN *et al.*, 2009).

Com isso, a utilização das plantas medicinais se dá por duas principais formas: como droga íntegra, rasurada ou moída, destinada à preparação extemporânea de infusos e chás para uso popular; ou ainda como extratos padronizados em relação a uma substância ou a um grupo de substâncias, para uso em medicamentos fitoterápicos (FREITAS, 2007).

No caso do uso como matéria-prima para elaboração de um medicamento, é necessário que a indústria de fitoterápicos realize a produção contemplando a idéia de segurança, eficácia e qualidade. Assim, requisitos básicos devem ser cumpridos desde a aquisição da matéria-prima vegetal (MPV), passando pelo processo produtivo, controle e garantia das análises, armazenamento e distribuição até chegar ao consumidor final. No Brasil, todas estas etapas são normatizadas e fiscalizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) a qual busca proteger e promover a saúde em nosso país (CARVALHO *et al.*, 2007).

Para cumprir tais requisitos, as empresas contam com diversos setores industriais, sendo o setor de Controle de Qualidade fundamental, por garantir que as análises realizadas na matéria-prima ou produto acabado estejam de acordo com o preconizado pelas legislações e pelos códigos oficiais, também denominados farmacopeias (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010).

Alguns desafios enfrentados pelo controle de qualidade na realização do método analítico a ser utilizado na avaliação da MPV são: extração dos constituintes a partir de uma matriz complexa; escolha da técnica quantitativa; falta de substâncias químicas de referência e variação da composição química entre os lotes de plantas (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010). Desta forma, torna-se relevante a padronização contínua das etapas de aquisição e controle da

MPV, bem como o aprimoramento contínuo das técnicas analíticas utilizadas nas indústrias e/ou publicadas ao longo das edições da Farmacopeia Brasileira.

A Farmacopeia Brasileira (FB) é o código oficial farmacêutico do Brasil, e atualmente está em sua quinta edição. Ela é de uso obrigatório para os que fabricam, manipulam, fracionam e controlam produtos farmacêuticos. Nela são descritos os padrões de qualidade das matérias-primas e medicamentos e os métodos para suas análises (BRASIL, 2011).

Desde sua primeira edição, publicada em 1926, até a última, publicada em 2010 (atualmente em vigor), a FB vêm apresentando mudanças significativas em muitos aspectos, principalmente na busca contínua por atualizações em sentido de aprimorar a qualidade das análises físico-químicas e microbiológicas das matérias-primas e produtos relacionados com a saúde (FB 5, 2010).

Estudos realizados por Brandão e colaboradores (2006; 2008) relatam levantamentos nas 4 primeiras edições da FB sobre dados das MPV nelas descritos. Porém, não foram encontrados nestes estudos, ou em outros dados na literatura pesquisada, sobre avanço tecnológico dos métodos quantitativos para as plantas presentes nas edições da FB, bem como não foram encontrados relatos de levantamento levando-se em consideração a última edição, publicada recentemente.

Tendo em vista esta temática sobre o controle de qualidade de MPV e sua importância para as indústrias que produzem fitoterápicos, a justificativa geral deste trabalho é abranger o conhecimento sobre a Farmacopeia Brasileira enfatizando os métodos utilizados para quantificação dos constituintes químicos de plantas medicinais e seu avanço ao longo das cinco edições.

2. Objetivos

2.1 Objetivo geral:

Observar o avanço tecnológico das técnicas analíticas quantitativas para doseamento de marcadores químicos de plantas medicinais ao longo das cinco edições da Farmacopeia Brasileira, bem como realizar um levantamento das monografias destas matérias-primas em sua última edição.

2.2 Objetivos específicos:

- a. Verificar em cada edição da FB os tipos de técnicas analíticas preconizadas para doseamento de compostos químicos de plantas medicinais;
- b. Realizar um levantamento, relacionando as plantas presentes na quinta edição da FB e as técnicas de doseamento para estas matérias-primas;
- c. A partir do levantamento realizado, comparar as cinco edições da FB para observar o grau de avanço tecnológico dos métodos quantitativos destas plantas.

3. Metodologia

A revisão bibliográfica foi efetuada em bancos de dados como Scielo, Scopus e Web of Knowledge. As legislações de interesse foram verificadas através do site da ANVISA e Visalegis.

O levantamento nas monografias de plantas medicinais contempladas na FB 5ª edição, bem como a busca pelos métodos quantitativos para estas matérias-primas nas demais edições, foi realizado pelo Hotsite da Farmacopeia Brasileira: www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira.

Os dados de interesse obtidos pelos levantamentos foram relatados através de tabelas e gráficos, sendo utilizado para isto o Microsoft Office Excel 2010.

4. Revisão da literatura

4.1 Fitoterápicos e sua legislação no Brasil

Plantas medicinais possuem tradição de uso em comunidades desde tempos muito antigos e são, até os dias atuais, amplamente utilizadas com intenção de prevenir, aliviar ou curar enfermidades. Ao serem processadas, de maneira adequada, originam os medicamentos fitoterápicos, que apresentam amplo interesse pelo ramo farmacêutico (CARVALHO *et al.*, 2007).

Tal interesse vem crescendo devido a um maior conhecimento químico, farmacológico e clínico das drogas vegetais e seus produtos derivados. As novas formas de preparo e administração de fitoterápicos, bem como o aprimoramento de métodos analíticos durante sua produção, vêm garantindo um produto mais elaborado e confiável, com maior aceitação pelos usuários, contribuindo desta forma para o desenvolvimento da fitoterapia (PONTES *et al.*, 2006).

A matéria-prima utilizada na produção dos fitoterápicos é exclusivamente a planta ou ainda, seus derivados, sendo que entre eles os extratos são os mais comumente utilizados (CARVALHO *et al.*, 2007; BRASIL, 2010a). A sua transformação até medicamentos deve ocorrer de forma a preservar a integridade química e farmacológica dos princípios ativos da planta, garantindo a constância de sua ação biológica e a segurança de seu uso, além de valorizar seu potencial terapêutico (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Contudo, os fitoterápicos são medicamentos que, apesar de serem feitos de plantas e considerados naturais, não podem ser usados de forma abusiva. Assim como outras substâncias sintéticas, eles podem ter efeitos colaterais, interações medicamentosas e contra-indicações. O fato de ser natural não garante, portanto, inexistência de risco à saúde, pois algumas plantas medicinais possuem efeitos indesejáveis e, em alguns casos, podem ser tóxicas (LÓPEZ, 2006).

Visando a saúde da população, no final da década de 1970, a Organização Mundial da Saúde (OMS), em Alma-Ata dos Cuidados Primários de Saúde, criou o “Programa de Medicina Tradicional”, incentivando a preservação da cultura tradicional popular. Tal programa recomenda aos países-membros “o desenvolvimento de políticas públicas para

facilitar a integração da medicina tradicional e da medicina complementar alternativa nos sistemas nacionais de atenção à saúde, assim como promover o uso racional dessa integração” (OMS, 1979). Porém, a criação destes programas ao redor do mundo não aconteceu tão rapidamente quanto se desejava.

No Brasil, somente em 2006 ocorreu a aprovação da “Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos”, a qual firmou a introdução deste assunto nas políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social, com objetivo de garantir à população brasileira o acesso seguro e uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006).

Contemplando estas políticas de uso seguro de fitoterápicos é indispensável que, além da promoção do uso racional destes produtos, exista também uma rigorosa fiscalização no controle de sua produção, garantindo que durante todas as etapas envolvidas no processo, ocorra fabricação de um medicamento seguro, com qualidade e eficácia comprovada (BRASIL, 2010b).

Neste contexto, é importante ressaltar que as empresas responsáveis tanto pela produção como pela comercialização de fitoterápicos, no Brasil, devem seguir normas criadas e fiscalizadas pela ANVISA, para garantir que o medicamento chegue ao consumidor cumprindo todos os requisitos básicos durante sua fabricação e distribuição (BRASIL, 2007; BRASIL, 2010a).

4.1.1 Normatização de fitoterápicos no Brasil

A ANVISA, criada no ano de 1999, é uma autarquia sob regime especial, vinculada ao Ministério da Saúde, que possui o objetivo de proteger e promover a saúde, garantindo a segurança sanitária do nosso país. Entre suas atribuições estão as responsabilidades de normatizar, controlar e fiscalizar produtos, substâncias e serviços de interesse para a saúde da população (BRASIL, 1999).

Este órgão é o responsável pela normatização e fiscalização de todos os medicamentos no Brasil, incluindo os fitoterápicos. Sendo assim, existem legislações específicas referentes a cada etapa do desenvolvimento, ou seja, desde a pesquisa científica, a aquisição da MPV, a

produção do fitoterápico, o controle de qualidade, seu registro e também seu comércio (OLIVEIRA *et al.*, 2006). E são através das Resoluções da Diretoria Colegiada (RDC) que se estabelecem as normas a serem seguidas pelas indústrias e fiscalizadas pela ANVISA.

Fitoterápico, por definição na legislação brasileira, é um medicamento no qual emprega-se exclusivamente matérias-primas de origem vegetal (BRASIL, 2010b), e podem ser produzidos de forma manipulada ou industrializada (GONÇALVES, 2009).

No primeiro caso, a manipulação de medicamento fitoterápico para uso humano é feita em farmácias com autorização da Vigilância Sanitária, com base em preparações magistrais (elaboradas a partir de prescrições médicas ou de dentistas) ou oficinais (constantes no Formulário Nacional ou nos compêndios oficializados no país), sendo normatizada pela RDC 67 de 2007, atualizada pela RDC 87 de 2008, que define as Boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias.

No entanto, quando se trata de medicamento fitoterápico industrializado para uso humano, este deve ser devidamente registrado na ANVISA e ser produzido por empresas certificadas, sendo, que para isso, a indústria deverá seguir uma das mais importantes resoluções, a RDC 17 de 2010, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF).

A indústria produtora de fitoterápicos deve possuir uma equipe montada para atender as necessidades deste tipo de produto, uma vez que trata do uso de matéria-prima complexa (BRASIL, 2010b). Portanto, dois setores tornam-se fundamentais para garantir a qualidade do produto, sendo eles: a garantia da qualidade e o controle de qualidade, pois ambos trabalham juntos pela busca de fornecedores confiáveis e adequabilidade das técnicas analíticas utilizadas na verificação de autenticidade da MPV utilizada na produção do medicamento.

O registro de um medicamento fitoterápico, no Brasil, é guiado pela RDC 14 de 2010, a qual estabelece os requisitos mínimos para que o medicamento possa ser produzido e comercializado. São englobados, nesta categoria, aqueles obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas vegetais, cuja eficácia e segurança são validadas por meio de levantamentos etnofarmacológicos, de utilização, documentações tecnocientíficas ou evidências clínicas (BRASIL, 2010a).

Em conjunto com a RDC 14/2010, diversas normativas estão envolvidas na realização do registro fitoterápico, como por exemplo:

- A resolução específica (RE) 899, de 29 de maio de 2003: "Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos";
- A RE nº 90, de 16 de março de 2004: "Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos";
- A RE nº 91, de 16 de março de 2004: "Guia para realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamentos pós-registro de fitoterápicos";
- A RE 01, de 29 de julho de 2005: "Guia para a realização de estudos de estabilidade de medicamentos";
- A instrução normativa (IN) 05, de 11 de dezembro de 2008: "Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado".
- A IN 02, de 30 de março de 2009: "Guia para a notificação de lotes-piloto de medicamentos";
- A IN 5 de 31 de Março de 2010: "Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos Fitoterápicos";

Para obtenção de registro de medicamento fitoterápico em geral, uma das etapas de elaboração do dossiê a ser encaminhado à ANVISA é o relatório de todas as especificações utilizadas, bem como os resultados analíticos de cada matéria-prima e produto acabado. Este relatório é efetuado pelo setor de Controle de Qualidade, o qual necessita seguir métodos analíticos validados ou farmacopeicos para estar de acordo com a legislação (BRASIL, 2003; BRASIL, 2010a).

Dentre as normativas citadas anteriormente, vale ressaltar que a IN 05/2008 é muito utilizada, uma vez que está relacionada com o relatório de eficácia e segurança. Os medicamentos obtidos de plantas que integram essa lista, não precisam validar suas indicações terapêuticas e segurança de uso no momento do registro perante a ANVISA. As indústrias apenas necessitam comprovar as BPF, bem como os resultados analíticos encontrados pelo controle de qualidade para as matérias-primas, produtos em processo, produto final e estudos de estabilidade (BRASIL, 2008; BRASIL, 2010a).

4.2 Farmacopeia Brasileira

Farmacopeia é o código oficial farmacêutico que estabelece especificações de qualidade dos produtos farmacêuticos, contemplando monografias, especificações e técnicas gerais que abrangem desde a matéria-prima até a embalagem final do medicamento. Sendo, portanto, essencial para a rotina do laboratório de Controle de Qualidade nas indústrias farmacêuticas (BRANDÃO, 2001).

A ANVISA é o órgão responsável pela revisão, atualização e publicação da Farmacopeia Brasileira. Porém, para ajudá-la nestas responsabilidades, em 2008 foi criada a Comissão da Farmacopeia Brasileira (CFB) e os Comitês Técnicos Temáticos (CTT). Tal ação ocorreu visando desenvolver trabalhos em parceria com instituições de ensino e pesquisa, na busca de melhorias e atualizações durante as revisões das edições (BRASIL, 2008a). Esta comissão deve estabelecer os prazos de vigência e sistemática de apresentação, bem como revisar, atualizar, inserir, substituir ou anular monografias e textos das edições, estando sempre em harmonia com as principais farmacopeias internacionais, OMS e International Conference Harmonization –ICH.

Conforme citado anteriormente, a farmacopeia é de extrema importância para a indústria produtora do fitoterápico, pois esta deve ser seguida durante as análises do controle de qualidade para então obter o registro dos fitoterápicos perante a ANVISA.

4.2.1 Histórico das edições da Farmacopeia Brasileira

Até a data da independência do Brasil (7 de setembro de 1822) vigorou como código farmacêutico oficial a Farmacopeia Geral para o Reino e Domínios de Portugal, publicada em 1794. A partir da emancipação política do Brasil, continuou a ser adotada esta mesma Farmacopeia, porém no ano de 1851 através do Decreto 828 se estabeleceu o Codex francês como farmacopeia oficial do nosso país.

Em 1924 o farmacêutico Rodolpho Albino Dias da Silva apresentou seu projeto de Farmacopeia Brasileira ao diretor do Departamento Nacional de Saúde Pública, e em 4 de novembro de 1926, pelo Decreto nº 17.509, foi aprovada a Farmacopeia Brasileira em sua 1ª edição.

Mais de trinta anos depois foi publicada a 2ª edição, pelo Decreto 45.502 de 27 de fevereiro de 1959. Nesta edição tornou-se obrigatória a presença da farmacopeia em farmácias, laboratórios industriais farmacêuticos e estabelecimentos do mesmo gênero.

Em 1976 surgiu a 3ª edição, oficializada pelo Decreto 78.840 de 25 de novembro. Neste decreto o Ministério da Saúde promoveria a cada cinco anos uma nova edição da FB.

A 4ª edição da farmacopeia foi publicada em duas partes. A parte I sobre generalidades e métodos de análise, aprovada pelo Decreto 96.607, de 30 de agosto de 1988, e a parte II composta por seis fascículos publicados em anos subsequentes, que trata então das monografias. Os fascículos foram publicados na seguinte ordem: 1 (1996), 2 (2000), 3 (2001), 4 (2002), 5 (2003) e 6 (2005). Nesta edição ficou decretada a presença obrigatória da farmacopeia em drogarias e farmácias, estabelecimentos de ensino de medicina, farmácia, odontologia e veterinária, órgãos de fiscalização e controle de qualidade de medicamentos, laboratórios industriais e estabelecimentos do mesmo gênero.

Brandão e colaboradores (2006; 2008) revisaram as quatro primeiras edições da FB buscando dados sobre as plantas medicinais e outros produtos vegetais nelas descritos. Assim, na 1ª edição relatam a presença de 1702 monografias, sendo que destas, 713 são referentes a plantas e os seus derivados (extratos, tinturas, óleo essencial, entre outros), incluindo monografias relacionadas a plantas nativas (196) e exóticas (517). Na segunda edição foram levantadas 814 monografias, contemplando 193 para produtos naturais. Na terceira edição observaram uma redução significativa no número de monografias totais, sendo publicadas apenas 471, onde destas, apenas 23 são para plantas medicinais e seus derivados, e por último os autores descrevem a presença de 44 monografias destinadas para os produtos de origem vegetal na quarta edição.

A 5ª e atual edição da Farmacopeia Brasileira foi aprovada pela RDC 49, de 23 de novembro de 2010, sendo composta de dois volumes, o volume I (Métodos gerais e textos) e volume II (Monografias). Esta por sua vez, possui 176 métodos gerais e 599 monografias, das quais 277 de insumos farmacêuticos, 210 de especialidades, 57 de plantas medicinais e derivados, 6 de correlatos, 30 de produtos biológicos e 19 de hemocomponentes e hemoderivados (FB 5, 2010).

Como diferencial, a mais recente edição traz para todas as monografias de MPV figuras ilustrativas para as características macroscópicas e microscópicas de identificação botânica,

bem como alguns avanços consideráveis nas técnicas de quantificação dos compostos químicos. Esta etapa, conhecida por doseamento é uma das análises mais importantes da MPV, e a modificação e avanço de suas técnicas ao longo dos anos vem contribuindo para uma constante melhora no controle de qualidade deste tipo de matéria-prima, uma vez que trata-se de matriz complexa (FB 5, 2010).

Vale a pena ressaltar que, neste contexto, não foram encontrados na literatura, avaliada, relatos sobre o avanço tecnológico das técnicas de doseamento dos compostos químicos de plantas medicinais presentes nas cinco edições da Farmacopeia Brasileira.

4.3 Controle de qualidade em indústrias de fitoterápicos

Como já mencionado, a indústria fabricante de fitoterápicos deve seguir as Boas Práticas de Fabricação de medicamentos. Desta forma, o setor denominado Controle de Qualidade é o responsável pelas análises realizadas em todas as matérias-primas, produtos em processo e produtos finais. Tal setor deve efetuar amostragens e análises garantindo autenticidade e confiança nos resultados para então poder realizar a liberação dos mesmos (BRASIL, 2010b).

As análises físico-químicas em conjunto com as microbiológicas são importantes para poder confirmar a autenticidade e qualidade de matérias-primas de modo geral. Uma das análises mais importantes em se tratando de MPV é o doseamento dos compostos químicos. Através deste tipo de análise pode-se quantificar o(s) marcador(es) químico(s) da planta, e então avaliar se os resultados obtidos se encontram dentro de especificações pré-estabelecidas (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010).

As especificações de MPV, por sua vez, são elaboradas de acordo com as monografias descritas na farmacopeia brasileira ou, na sua ausência, nas monografias de plantas contidas em farmacopeias devidamente reconhecidas pela ANVISA (BRASIL, 2009). Conforme a legislação vigente para fabricação de fitoterápicos, a especificação deve possuir as seguintes análises: nomenclatura botânica oficial, parte da planta utilizada, testes de identificação para princípios ativos ou marcadores conhecidos, descrição macroscópica e microscópica, testes de pureza e integridade (cinzas totais, umidade, perda por secagem, cinzas insolúveis em ácido, material estranho e metais pesados), testes para determinação de contaminação microbiológica, análise de resíduos de pesticidas, fumigantes, radioatividade, micotoxinas, se aplicável; outros

testes apropriados, incluindo solventes residuais utilizados na extração do derivado; e análises qualitativas e quantitativas sobre os princípios ativos e/ou marcadores quando conhecidos, ou classes de compostos químicos característicos da espécie (BRASIL, 2010b).

4.3.1 Quantificação de marcadores químicos de MPV

Para a definição dos parâmetros necessários na padronização de métodos durante avaliação da qualidade da MPV e de medicamentos fitoterápicos, é de extrema importância a determinação dos constituintes químicos, principalmente do marcador químico das espécies vegetais (SIMÕES *et al.*, 2003).

O marcador químico pode ser definido como um composto ou classe de compostos químicos presentes na matéria-prima vegetal que tenham, preferencialmente, correlação com o efeito terapêutico, e é utilizado como referência no controle de qualidade (BRASIL, 2010a). As plantas são capazes de produzir muitos tipos de metabólitos, entre os quais estão os metabólitos secundários que são muitas vezes os responsáveis pela ação terapêutica e/ou considerados como marcadores, e podem ser classificados em grupos de acordo com sua composição química. Como exemplos, existem os óleos essenciais, saponinas, carotenos, flavonoides, taninos, alcaloides, entre outros (VIZZOTTO *et al.*, 2010).

Os ensaios de quantificação dos marcadores da planta destinam-se à determinação do teor de substâncias presentes nas drogas vegetais e dependem da classe dessas substâncias. Geralmente é determinado o teor de um grupo de compostos, como por exemplo, derivados antraquinônicos para a planta conhecida popularmente por sene ou o grupo de alcaloides totais da planta beladona, mas em alguns casos pode ser necessário o doseamento de um composto específico, por exemplo, o alcaloide reserpina da planta chamada rauwolfia. Deste modo, o método analítico de escolha deve ser determinado de acordo com as características do grupo de interesse, uma vez que estes possuem estruturas químicas bem diversificadas (SIMÕES *et al.*, 2003).

Análise de MPV não é algo simples, pois as plantas possuem uma composição muito complexa e variável. Sendo assim, podem ocorrer resultados falsos durante a análise do teor de princípios ativos. Porém, para que isto não ocorra, técnicas de preparação das amostras e análise para doseamento devem estar devidamente estabelecidas no laboratório analítico, bem

como todo pessoal estar altamente treinado para execução de tais métodos (SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010).

Dentre as técnicas de preparo da amostra, o método de extração deve ser escolhido de modo a retirar representativamente todos os compostos químicos de interesse, sendo o solvente, a temperatura, o tempo e o modo de extração as variáveis que mais interferem no preparo adequado da MPV para posterior análise quantitativa de seus componentes químicos (SOUZA *et al.*, 2012a).

Os procedimentos extrativos de substâncias não voláteis presentes em plantas podem ser do tipo convencional, como: maceração estática, maceração dinâmica, percolação, refluxo e *soxhlet*; ou ainda por procedimentos mais modernos como: extração por fluido supercrítico, ultra-som, microondas e solvente pressurizado (SOUZA *et al.*, 2012b).

No caso de extração dos compostos voláteis, como os óleos essenciais, existem os processos de enfloração, prensagem, extração com solventes orgânicos, hidrodestilação e arraste de vapor, e ainda os processos mais modernos como fluido supercrítico. Porém, para fins de determinação quantitativa, o método mais utilizado é o convencional por hidrodestilação, sendo chamado de *clevenger* o equipamento destinado para este tipo de extração (SOUZA *et al.*, 2012b).

A hidrodestilação é baseada em uma corrente de vapor d'água que passa pela amostra, condensando a água e o óleo essencial, sendo um método que apresenta produtos de alta pureza e de bom rendimento. No entanto, durante o processo pode haver degradação da amostra devido a fatores como temperatura elevada (GOMES, 2003).

Para doseamento de compostos químicos na MPV, muitas técnicas podem ser utilizadas, e a escolha se baseia em qual método irá contemplar requisitos básicos de sensibilidade e especificidade, além de possibilitarem agilidade e simplicidade na sua execução, sempre levando em conta a amostra de interesse (SIMÕES *et al.*, 2003; SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010).

As técnicas utilizadas para doseamento de marcadores químicos vegetais, ao longo das edições da FB, são baseadas em métodos gravimétricos, titulométricos ou espectrofotométricos, assim como métodos mais sensíveis e específicos, como as técnicas cromatográficas, onde a cromatografia líquida é empregada para compostos não voláteis e a

cromatografia gasosa para os voláteis (SIMÕES *et al.*, 2003; SOUZA-MOREIRA *et al.*, 2010; FB 5, 2010).

Outras técnicas de quantificação de compostos químicos também estão sendo utilizadas para doseamento de plantas em ambientes acadêmicos ou industriais, onde pode-se citar a eletroforese capilar, a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) e a cromatografia em camada delgada de alta eficiência (CCDAE), porém tais técnicas não estão até o momento constantes na Farmacopeia Brasileira (AUSSENAC *et al.*, 1998; FB 5, 2010; ATTIMARAD *et al.*, 2011; WANG *et al.*, 2012;).

4.3.2 Doseamento por Gravimetria

Os métodos gravimétricos determinam a massa do analito ou de algum composto quimicamente a ele relacionado. O procedimento de quantificação pode ocorrer por diversas maneiras, como por precipitação dos compostos e posterior pesagem; ou ainda quando os compostos são separados por algum solvente específico, transferido para alguma vidraria previamente tarada, com posterior evaporação do solvente e determinação da massa do analito restante até peso constante (SKOOG *et al.*, 2004).

Em procedimentos gravimétricos de análise dos compostos de plantas deve-se realizar primeiramente a extração dos compostos, com posterior purificação da amostra, onde normalmente emprega-se um solvente com polaridade seletiva ao composto de interesse. Após, o solvente é evaporado e pesa-se os constituintes não voláteis até peso constante. Porém esse método consome muito tempo e nem todos os interferentes conseguem ser removidos no momento de purificação das amostras, o que pode levar a uma superestimativa dos níveis do composto de interesse no produto (SIMÕES *et al.*, 2003; DE MARIA & MOREIRA, 2007).

Para análise de alcaloides, a gravimetria é bastante utilizada (SIMÕES *et al.*, 2003). Este método foi o primeiro desenvolvido para análise de cafeína em produtos alimentícios. A técnica consiste na extração do produto com água ou etanol, limpeza do filtrado com óxido de magnésio e extração subsequente com clorofórmio. Após a transferência da fase orgânica à uma vidraria previamente tarada e evaporação do clorofórmio, o conteúdo de cafeína pode ser determinado pela pesagem do resíduo (DE MARIA & MOREIRA, 2007).

4.3.3 Doseamento por volumetria

Os métodos volumétricos incluem um amplo e poderoso grupo de procedimentos quantitativos baseados na medida da quantidade de um reagente de concentração conhecida que é consumida pelo analito. A titulometria envolve a medida de volume de uma solução de concentração conhecida necessária para reagir essencial e completamente com o analito. Para determinação do ponto final do procedimento, algumas substâncias indicadoras são frequentemente adicionadas à solução que será titulada para produzir uma alteração física visível (o ponto final) próxima ao ponto de equivalência (SKOOG *et al.*, 2004).

Para determinação de alcaloides totais, um método bastante utilizado é a titulometria empregando-se como alcalinizante o hidróxido de amônio ou outra base fraca. Neste tipo de análise ocorre titulação por retorno, na qual o ácido empregado pode ser, por exemplo, o HCl 0,01M, e o fundamento está baseado no fato de o alcaloide livre ser salificado com ácido, e o excesso de ácido ser então titulado por uma base (SIMÕES *et al.*, 2003).

A titulometria para análise de cumarinas em plantas e seus derivados é hoje em dia de uso raro. Seu fundamento está baseado na capacidade do anel lactona se abrir na presença de um composto alcalino. Esta técnica constitui outro exemplo de titulação por retorno, onde adiciona-se excesso de uma base na amostra, sendo que uma parte sofrerá reação com a cumarina, e o restante será titulado com um ácido. A vantagem deste método está baseado no fato de não necessitar de comparação com substância química de referência, porém a desvantagem é a baixa especificidade da técnica (LOZHKIN & SAKANIAN, 2006).

4.3.4 Doseamento por espectrofotometria

A espectrofotometria de absorção no ultravioleta e/ou visível (UV-Vis) é uma técnica quantitativa amplamente utilizada para doseamento de MPV. A metodologia está fundamentada em medir a quantidade de radiação UV-VIS absorvida por um composto químico em comprimento de onda na faixa de 200-800 nm. Esta técnica possui como principal vantagem a simplicidade durante as análises, porém o fato de apresentar seletividade pequena e dependente do grupamento cromóforo constitui uma limitação de seu uso (SKOOG *et al.*, 2004).

Para determinação de fenóis totais há métodos espectrofotométricos clássicos utilizados para avaliação de plantas, nos quais utiliza-se o reagente de Folin-Denis ou o de Folin-Ciocalteu. Estes métodos fundamentam-se em reações de oxi-redução entre o reagente e as hidroxilas fenólicas gerando complexos coloridos, que são quantificados por espectrofotometria em comprimento de onda de 760 nm. Nestas condições, todas as substâncias fenólicas presentes são doseadas, sendo que a maior desvantagem ocorre quando se pretende dosear distintamente um grupo específico de polifenóis, como por exemplo, os taninos ou flavonoides (SIMÕES *et al.*, 2003; CABRAL, 2009).

Uma outra técnica espectrofotométrica utilizada para fenóis, no entanto mais especificamente para os flavonoides, é a reação de complexação com cloreto de alumínio em meio metanólico. A formação do complexo promove um efeito batocrômico e uma intensificação da absorção na análise espectrofotométrica. Dessa maneira, é possível determinar a quantidade de flavonoides, evitando a interferência de outras substâncias fenólicas, principalmente os ácidos fenólicos, a leitura ocorre em comprimento de onda de 510 nm (SIMÕES *et al.*, 2003).

Em estudo comparativo de métodos, Silva e colaboradores (2008) demonstraram que o uso da espectrofotometria na quantificação de cumarina em xarope de guaco pode ser uma boa alternativa. O método desenvolvido por eles utiliza leitura à 320 nm, e mostrou-se ser exato mesmo na presença de conservantes e demais constituintes da matriz complexa do extrato vegetal presente. Os resultados demonstraram que a metodologia é comparável em termos de exatidão com método cromatográfico, possuindo algumas vantagens como rapidez e facilidade de realização.

4.3.5 Doseamento por cromatografia

A Cromatografia abrange uma gama de técnicas bem estabelecidas como ferramentas efetivas no controle de processo e na análise de matéria-prima e produto acabado. Além de ser amplamente difundida no meio acadêmico e indústria farmacêutica, sua utilização na avaliação de matérias-primas vem sendo preconizada pela maioria dos códigos oficiais, principalmente em função de vantagens como precisão, exatidão, seletividade, operação automatizada e aplicabilidade a diversos tipos de matrizes (SKOOG *et al.*, 2004).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) vem sendo a técnica analítica mais desenvolvida e empregada nos laboratórios de análise das indústrias farmacêuticas nos últimos anos. Em geral, a CLAE pode ser utilizada para analisar quase todos os compostos de medicamentos fitoterápicos e MPV de uma forma segura e reprodutível (LIANG *et al.*, 2004 ; MALDANER & JARDIM, 2009).

O funcionamento desta técnica se dá por separação fundamentada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária, sólida, contida em uma coluna cilíndrica. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por tamanho ou interações estereoquímicas, que dependem do tipo de fase estacionária utilizada. Os detectores mais frequentemente utilizados em CLAE são os espectrofotométricos (UV/Vis), sendo utilizados para detectar compostos com grupamento cromóforo, mas para outros casos a farmacopeia brasileira cita ainda os detectores por índice de refração, potenciométricos, fluorimétricos e de massas (FB 5, 2010). Porém, mais detectores podem ser utilizados para CLAE, como os de quimiluminescência, infra-vermelho, de atividade óptica e “light scattering” (BRUCKNER *et al.*, 1994).

A fim de investigar as vantagens da CLAE em relação ao UV-Vis, estudos de doseamentos em MPV vêm sendo desenvolvidos. Entre alguns exemplos, o estudo realizado por Sousa e colaboradores (2010), investigou o teor de substâncias marcadoras do Guaraná por método espectrofotométrico e também por CLAE, com o objetivo de obter um método analítico preciso, específico, sensível, rápido e confiável. Neste estudo, o método cromatográfico apresentou maior especificidade, pois quantifica as substâncias individualmente, além de apresentar apenas uma etapa de análise, enquanto que o espectrofotométrico analisa o grupo de substâncias sendo menos seletivo e necessita de etapa adicional de reação colorimétrica.

A cromatografia gasosa (CG) é o método de escolha para quantificar substâncias componentes de óleos voláteis das plantas (SIMÕES *et al.*, 2003). Como estes compostos são substancialmente voláteis, a amostra é somente solubilizada em solventes como hexano, antes de ser injetada no equipamento. O fundamento está baseado na diferença de distribuição de compostos de uma mistura entre duas fases não miscíveis, na qual a fase móvel é um gás de arraste que se move através da fase estacionária contida em uma coluna. A amostra, assim como na CLAE, passa por um detector ao final do processo, sendo os por ionização em chama

os mais utilizados (FB 5, 2010). Para separação, utilizam-se colunas capilares, pois as colunas empacotadas não são recomendadas para esta determinação de óleos voláteis (SIMÕES *et al.*, 2003).

O uso de CG também pode ocorrer com marcadores químicos de plantas ditos como não voláteis, porém a amostra necessita de alto procedimento de limpeza e purificação antes de seu uso, e muitas vezes precisa de etapa adicional de derivatização. Por estes motivos o uso de CG não é usual para essas amostras ditas não voláteis, e as técnicas espectrofotométricas e CLAE tornam-se as mais utilizadas nestes casos. Porém, desde que a metodologia esteja validada e seja viável sua implementação, pode sim ser uma alternativa nos laboratórios de controle de qualidade (LOZHKIN & SAKANIAN, 2006; DE MARIA & MOREIRA, 2007).

4.3.6 Métodos semi-quantitativos para plantas

Algumas plantas possuem características próprias que podem ser determinantes para comprovação de sua autenticidade, sendo mensuráveis por meio de ensaios semi-quantitativos específicos. Exemplos de características mensuráveis por estes testes são os de rendimento de substâncias extraíveis em algum solvente, ou determinação de atividade hemolítica e ainda as determinações de alguns índices como o de amargor, espuma ou intumescência (SIMÕES *et al.*, 2003).

Algumas plantas podem definir sua qualidade a partir de um resultado mínimo de rendimento após extração em algum solvente de polaridade específica. Muitas vezes o ensaio de substâncias extraíveis em álcool torna-se uma ferramenta para determinar se a planta está apta para uso em procedimentos produtivos. O procedimento consiste em extrair exaustivamente a droga através de técnica específica, evaporar o solvente e medir gravimetricamente o valor do extrato seco obtido (SIMÕES *et al.*, 2003; FB 5, 2010).

Plantas ricas em saponinas demonstram a presença destas substâncias pelos testes de determinação do índice de espuma e determinação da atividade hemolítica. No primeiro caso, são necessárias diluições sucessivas da amostra em tubos de ensaio contendo água com posterior agitação intensa, sendo que ao final deste procedimento mede-se a altura formada pela espuma em cada tubo e determina-se o índice de interesse. Já para determinação da atividade hemolítica, o ensaio é realizado por meio de uma mistura de uma suspensão de

eritrócitos com volumes iguais de uma diluição em série do extrato, e para comparação dos resultados usa-se uma solução referência de saponina com atividade hemolítica conhecida e observam-se os tubos que ocorreram hemólise total (SIMÕES *et al.*, 2003; FB 5, 2010).

Plantas ricas em alcaloides ou alguns outros constituintes amargos podem possuir um índice de amargor determinante para cada espécie vegetal, e isto é importante para diferenciações e controle de qualidade. Essas propriedades amargas são determinadas pela comparação da concentração limiar de amargor de um extrato com a de uma solução diluída de cloridrato de quinina. O valor do índice de amargor é expresso em termos de unidades, equivalentes a uma solução de cloridrato de quinina a 0,05% (FB 5, 2010).

Até a terceira edição da FB estes testes muitas vezes estavam classificados como testes de doseamento de algumas plantas medicinais, mas a partir da quarta edição eles foram classificados como ensaios diferenciados, estando em um intermédio de ensaios de pureza e quantificação. Na última edição da FB tais técnicas estão descritas em um capítulo próprio denominado por “métodos de farmacognosia”, e quando a planta necessita destes ensaios, sua monografia mostra a especificação para cada caso específico (FB 5, 2010).

5. Resultados e Discussão

No levantamento realizado, apenas as monografias de plantas foram consideradas para composição dos resultados, ou seja, não foram levados em consideração os seus derivados como tinturas, pós, resinas e óleos.

Para os métodos de doseamento quantitativos foram avaliados e relatados apenas aqueles onde a determinação se dá para grupos de substâncias químicas, ou compostos específicos, presentes nas plantas. Já para os métodos de doseamento semi-quantitativos somente foram levados em consideração os que não se enquadram nos típicos métodos desta categoria, ou seja, não foram contabilizados ensaios de determinação de substâncias extraíveis em água, quantidade de substâncias extraíveis em álcool, teor de amargor, teor de intumescência, determinação de óleos fixos, determinação de índice de espuma e determinação de atividade hemolítica.

Para compreensão dos resultados que serão apresentados, vale ressaltar que em muitos casos, uma mesma monografia de planta apresentava mais de um tipo de método quantitativo, pois algumas plantas podem possuir mais de um grupo de compostos para serem seus marcadores químicos.

Na FB I edição, publicada em 1926, foi encontrado um total de 247 monografias para plantas, das quais 40 apresentaram análise de doseamento, correspondendo a um valor percentual de apenas 16,19%. Destas, 42,50% correspondem à técnica por volumetria, 37,50% à gravimetria, 2,50% à método semi-quantitativo e 17,50% corresponde à teor de óleo volátil, conforme demonstrado na figura 1.

Pode-se verificar que 80% dos métodos de quantificação dos marcadores de plantas nesta edição baseavam-se em volumetria e gravimetria, técnicas consideradas, hoje, menos precisas, mas que na época estavam dentro do contexto analítico existente.

A quantificação de óleo volátil, totalizando 17,50% das técnicas quantitativas presentes na FB I edição, era referenciada por teor de óleo etéreo volátil ou essência. No primeiro caso a técnica estava baseada na extração com éter em *soxhlet* durante 20 horas, evaporação do solvente e posterior pesagem do rendimento; e no segundo caso por hidrodestilação.

Ensaio semi-quantitativo representa 2,50% do levantamento realizado na FB I edição, estando citado como doseamento para compostos da droga vegetal malte. Porém, tal método,

na realidade pode ser hoje considerado como de identificação. A técnica consistia na mistura de 20 mL de extrato desta planta com uma pasta padronizada de amido, e a especificação é a ausência de coloração azulada.

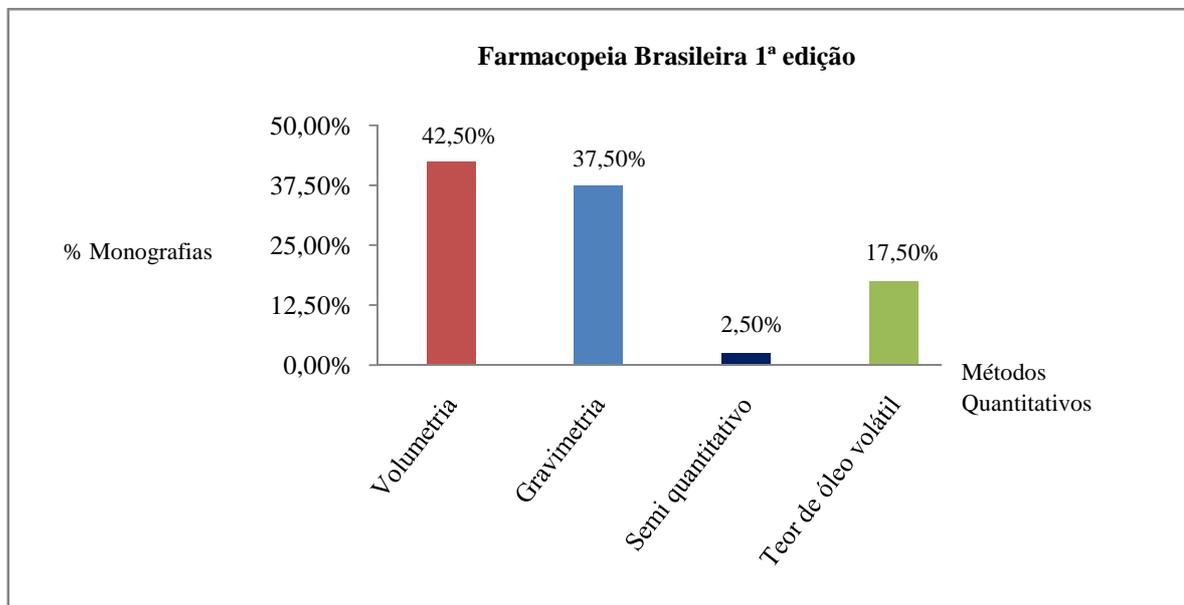


Figura 1. Técnicas preconizadas para doseamento de marcadores químicos de 40 plantas presentes na FB I edição.

Na FB II edição, houve ocorrência de 70 monografias de plantas, onde 36 apresentaram análise de doseamento, totalizando um valor percentual de 51,43%. Destas, 16,66% correspondem à técnica por volumetria, 36,11% à gravimetria, 13,88% à método semi-quantitativo, 30,55% à teor de óleo volátil e 2,77% à espectrofotometria, conforme demonstrado na figura 2.

A primeira mudança que ocorre entre a primeira e segunda edição da FB é a diminuição do número de monografias presentes, e isto se deve ao fato de a Comissão de Revisão ter deliberado que um grande número de drogas e preparações galênicas oficiais diversas, de pouco emprego, fôssem suprimidas da 1ª edição, sendo incluídas, em grande parte, no Formulário Nacional, publicado tempo depois como complemento da Farmacopeia.

Apesar de a volumetria continuar sendo amplamente citada na FB II edição, houve uma inversão da prevalência de técnicas, sendo substituída pela quantificação através da gravimetria.

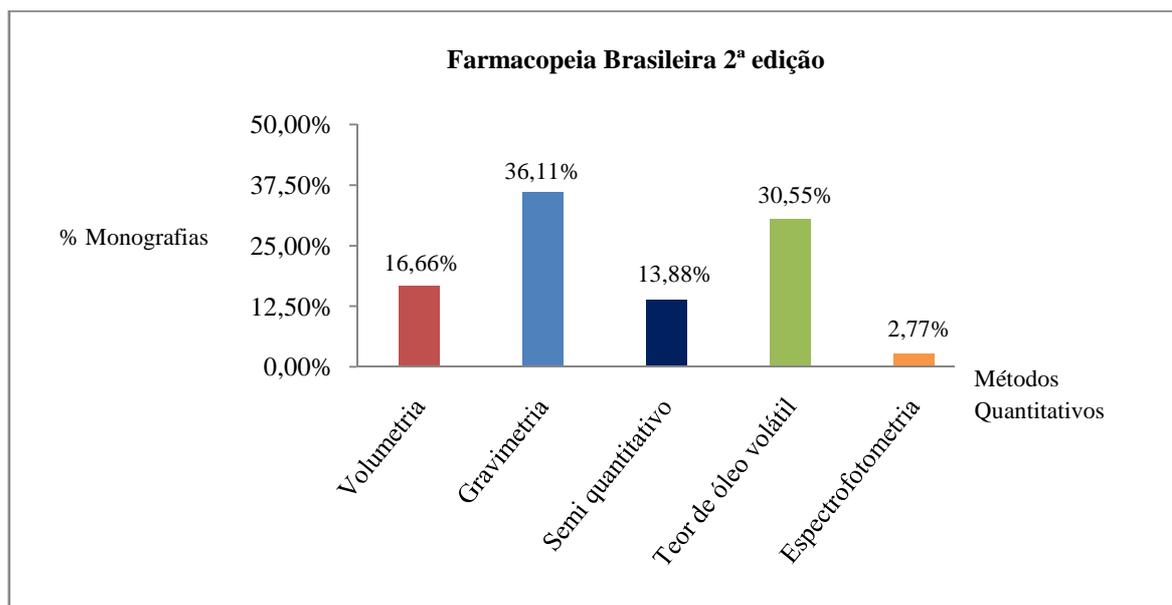


Figura 2. Técnicas preconizadas para doseamento de marcadores químicos de 36 plantas presentes na FB II edição.

Ensaio semi-quantitativos representam 13,88% do levantamento realizado, estando citados como doseamento para compostos das plantas barbatimão, hamamelis, malte, quina vermelha e quina amarela. Para o doseamento do barbatimão e hamamelis, a técnica empregada baseava-se em comparação de diluições da amostra com diluições do padrão para analisar grau de turbidez. Processos semelhantes de observações de turvação eram utilizados para determinação de compostos da quina vermelha e quina amarela, constituindo ensaios limites. Já para o malte, a técnica usada era a mesma da primeira edição já citada anteriormente, a qual pode ser atualmente mais enquadrada em ensaios de identificação.

O grande avanço observado na FB II edição foi a introdução de determinação de compostos de MPV por espectrofotometria. A única monografia de planta que apresenta este ensaio é o esporão de centeio, na qual analisa os alcaloides totais e alcaloides solúveis na água, utilizando um reagente preparado com ácido sulfúrico, água, p-dimetilaminobenzaldeído e cloreto férrico para realização de reação colorimétrica em meio ácido, com posterior leitura espectrofotométrica em 630 nm, e comparação frente à substância química de referência (SQR) ergometrina.

Na FB III edição, foram verificadas 22 monografias de plantas e destas, 17 apresentaram análise de doseamento, correspondendo a um valor percentual de 77,27%.

Conforme demonstrado na figura 3, as técnicas de volumetria, gravimetria e espectrofotometria apresentaram o mesmo percentual de 23,53%, e para os demais métodos os percentuais encontrados foram de 17,65% para método semi-quantitativo e 11,76% para teor de óleo volátil.

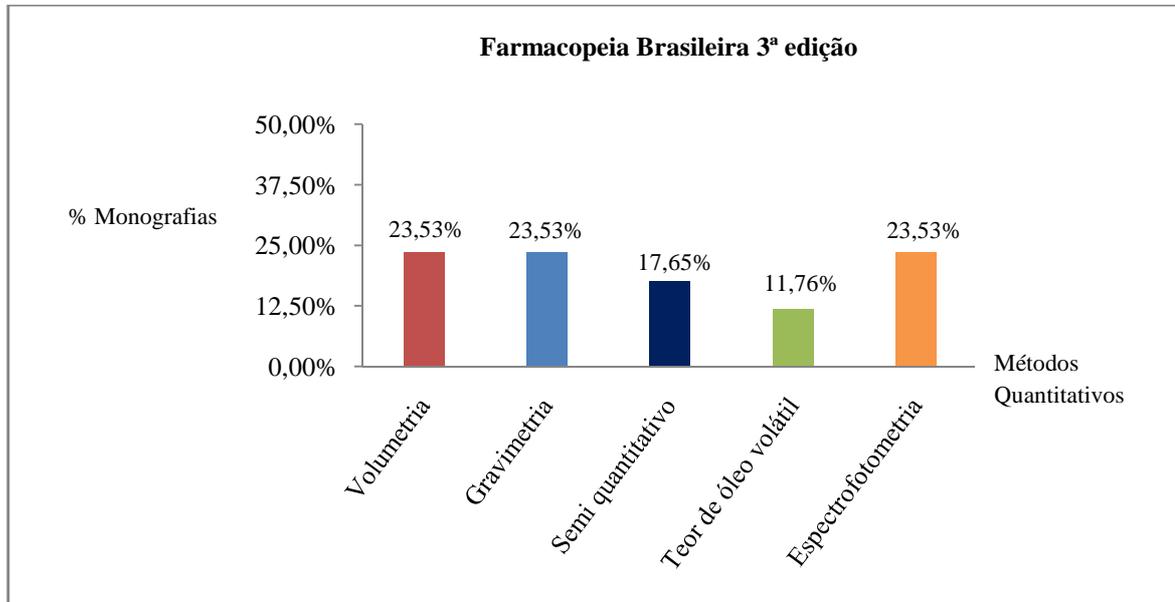


Figura 3. Técnicas preconizadas para doseamento de marcadores químicos de 17 plantas presentes na FB III edição.

Nesta edição da FB pode-se verificar que houve um equilíbrio com relação às técnicas de volumetria, gravimetria e espectrofotometria, devido ao mesmo valor percentual observado para as três técnicas. Já em comparação com a segunda edição, a espectrofotometria apresentou um avanço considerável de 2,77% para 23,53%.

Outra observação realizada foi a grande redução do número total de monografias presentes na FB III edição, incluindo as monografias de plantas. Mas, independente disto, houve um aumento no percentual de métodos quantitativos para plantas e, portanto pode-se perceber a preocupação em aumentar os ensaios quantitativos visando garantia da qualidade destas matérias-primas.

Ensaio semi-quantitativos representam 17,65% do levantamento realizado na FB III edição, estando novamente presentes os ensaios de doseamentos para compostos das plantas quina amarela e quina vermelha, os mesmos citados na FB II edição, e ainda a adição do ruibarbo. Uma técnica simples e mais voltada à ensaio de identificação está descrita para

doseamento do ruibarbo, a qual se baseia em extração da planta com álcool e posterior examinação do extrato à luz de Wood, não devendo aparecer fluorescência azul (raponticina).

Na figura 4 pode-se observar os resultados do levantamento realizado na FB IV edição, onde foram constatadas 42 monografias de plantas e, destas, 40 apresentaram análise de doseamento, totalizando um valor percentual de 95,24%. Dentre elas, 4,76% correspondem à técnica de volumetria, 25,40% à teor de óleo volátil, 41,27% à espectrofotometria, 11,11% à CLAE e 17,46% à cromatografia gasosa.

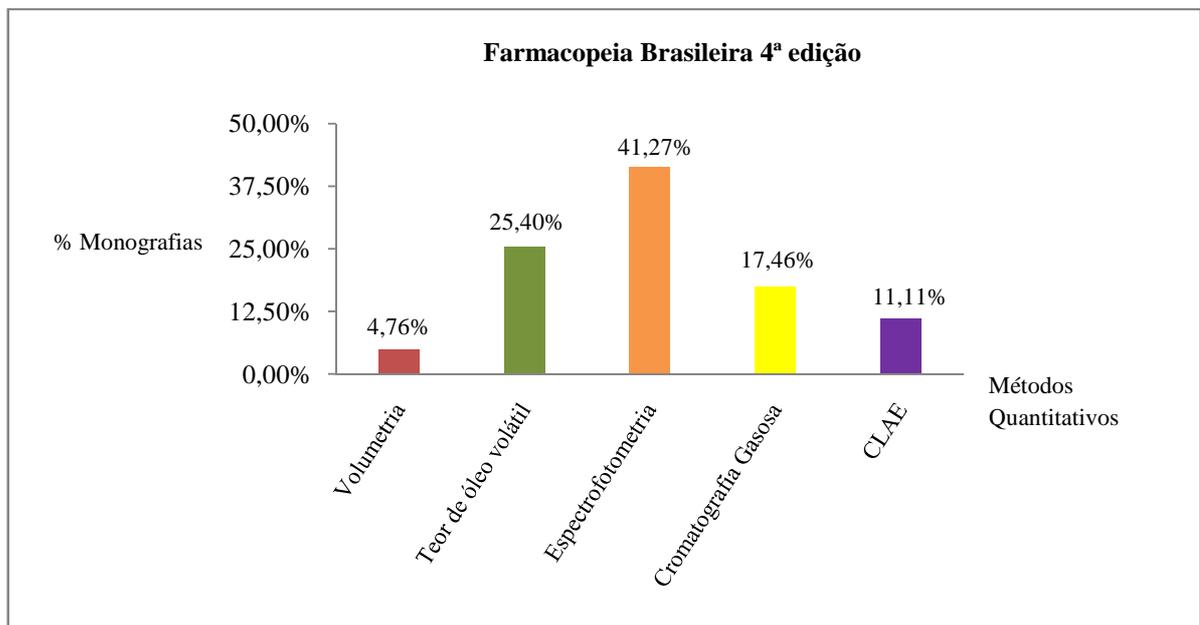


Figura 4. Técnicas preconizadas para doseamento de marcadores químicos de 40 plantas presentes na FB IV edição.

Mais da metade dos métodos de doseamento nesta edição está baseado em espectrofotometria e determinação de óleo volátil, sendo que a técnica espectrofotométrica foi a mais preconizada com relação às outras. Métodos menos específicos como volumetria diminuíram consideravelmente a partir desta edição, e método semi-quantitativo e técnicas gravimétricas deixaram de ser utilizadas.

A FB IV edição apresentou como diferencial, a introdução da técnica de cromatografia, até então não preconizada anteriormente nas análises de doseamento para plantas. Podem-se observar análises tanto de cromatografia líquida como gasosa, demonstrando o avanço das

técnicas quantitativas que representam maior especificidade, precisão, exatidão e sensibilidade analítica.

Na quinta e última edição da FB foram encontradas 48 monografias para plantas medicinais, das quais 44 apresentaram análise de doseamento, totalizando um valor percentual de 91,66%. Destas, 6,15% correspondem à técnica por volumetria, 20,00% à teor de óleo volátil, 40,00% à espectrofotometria, 23,08% à CLAE e 10,77% à cromatografia gasosa, conforme demonstrado na figura 5.

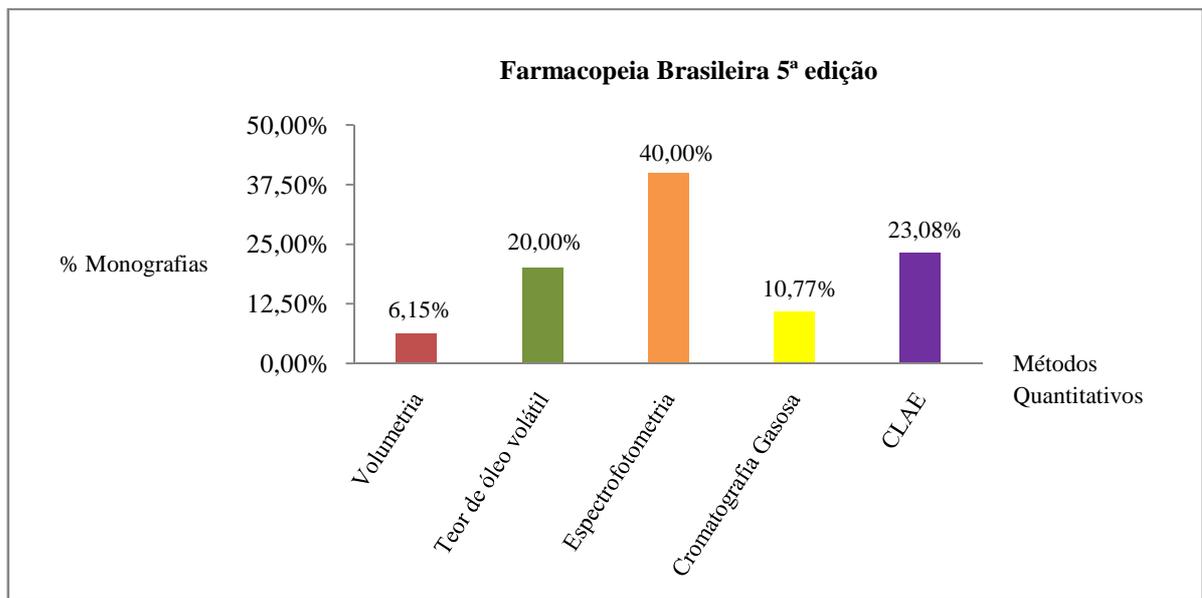


Figura 5. Técnicas preconizadas para doseamento de marcadores químicos de 44 plantas presentes na FB 5ª edição

Na FB 5ª edição métodos semi-quantitativos e gravimétricos continuaram em ausência e a prevalência mais uma vez ocorreu para análise por espectrofotometria. A cromatografia líquida (CLAE) aumentou o seu percentual e a cromatografia gasosa diminuiu, quando em comparação à edição anterior, porém este fato está relacionado com a saída de algumas monografias de espécies com marcadores voláteis.

Foi a partir da FB IV edição que ocorreu a adição do uso da cromatografia, tanto líquida como gasosa, para doseamento de compostos. É importante ressaltar novamente que as técnicas cromatográficas são consideradas técnicas mais seguras quanto aos resultados apresentados, por serem altamente sensíveis e específicas, representando assim mais um

exemplo do avanço que vem acontecendo para doseamento de plantas presentes nas edições da FB. O aumento do uso de cromatografias nas últimas duas edições foi de 28,57% para 33,33%, sendo um indício de que isto continuará aumentando nas futuras edições, a fim da busca contínua por métodos mais adequados e representativos para doseamento dos marcadores químicos das matérias-primas.

Visualizando as 5 primeiras figuras, pode-se avaliar que os métodos utilizados para doseamento de marcadores químicos de plantas, de uma forma geral, tiveram avanço nas cinco edições da FB. A volumetria classificada como técnica pouco seletiva foi a mais preconizada na FB I edição, porém isto se modificou ao longo dos anos, sendo que hoje na FB 5ª edição a espectrofotometria é a técnica mais citada.

Ainda é importante ressaltar que o conceito de garantia da qualidade durante análises de plantas melhorou entre a primeira e a última edição, visto que o número de monografias contendo a determinação de teor dos marcadores químicos para padronização destas matérias-primas aumentou consideravelmente. Tal fato está melhor representado na figura 6, a qual contempla cada edição da FB com percentual de monografias que apresentam tal análise.

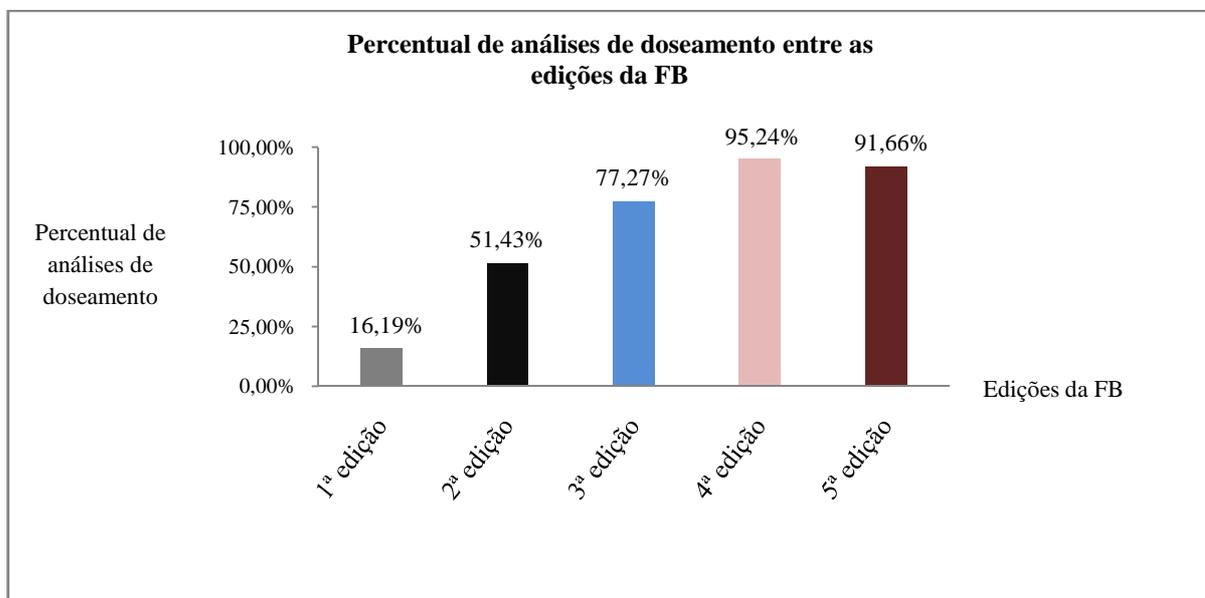


Figura 6. Percentual de análises de doseamento observado para as cinco edições da FB.

Houve um crescimento considerável no número de doseamentos dos marcadores químicos de plantas presentes na FB. Em comparação entre as cinco edições, foi a partir da terceira edição que ocorreu a implantação de métodos quantitativos para a maioria das plantas, sendo que na quarta e quinta edição este valor quase atinge os 100%.

Segundo a RDC 49/2010, somente as monografias presentes na quinta edição da FB são consideradas válidas, portanto, foi realizado um levantamento sobre quais plantas estão constantes nesta última edição.

Levando em conta o contexto deste trabalho, foi realizado também o levantamento dos métodos de doseamento empregados em cada situação, e para visualização do avanço analítico destes métodos, fez-se um levantamento nas outras edições. Os resultados estão expressos na tabela 1.

Conforme representado na tabela 1, das 48 monografias de espécies vegetais presentes na FB 5ª edição, foi avaliado também ocorrência de 28 destas na primeira edição, 28 na segunda, 12 na terceira e 23 na quarta. Devido diferenças de espécies relatadas entre edições, mas que possuem mesmo nome popular, algumas plantas foram desconsideradas de edições anteriores, como o caso do chapéu de couro, hortelã pimenta e ratânia. Deste modo, as monografias para as espécies *Aloe vera*, *Echinodorus grandiflorus*, *Passiflora edulis*, *Krameria triandra*, *Sambucus nigra* e *Salix alba* são relatadas pela primeira vez somente na FB 5ª edição.

Tabela 1. Plantas presentes em monografias da FB 5ª edição, relatando sua presença em edições anteriores, bem como os métodos quantitativos utilizados para análise de marcadores químicos em cada edição.

Nome popular	Nome científico com sinónimas	Edições da FB e métodos de doseamentos					Marcadores químicos
		I	II	III	IV	5	
Abacateiro	<i>Persea americana</i> Mill						Flavonoides e óleo volátil
	<i>Persea gratissima</i> Gaertner filius	-	-			O / E	
	<i>Persea persea</i> (Linné) Cockerell						
Aloe	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm					E	Carboidratos
Alteia	<i>Althaea officinalis</i> Linné	-	-			-	Não possui
Anis doce	<i>Pimpinella anisum</i> Linné	-	O		O / CG	O / CG	Óleo volátil
Anis estrelado	<i>Illicium verum</i> Hooker filius	-	O	O	O / CG	O / CG	Óleo volátil
Arnica	<i>Arnica montana</i> Linné	-	-	-		CLAE	Sesquiterpenos lactônicos
Barbatimão	<i>Stryphnodendron adstringens</i> Martius	-	SQ		E	E / CLAE	Taninos
	<i>Stryphnodendron barbatimao</i> Martius						
Baunilha	<i>Vanilla planifolia</i> Andrews	-	-			-	Não possui
Beladona	<i>Atropa belladonna</i> Linné	V	V	V	V	V	Alcaloides
Boldo	<i>Peumus boldus</i> Molina	-	O		O / V	O / CLAE	Alcaloides e óleo volátil
	<i>Boldus boldus</i> Molina						
Calêndula	<i>Calendula officinalis</i> L.				E	E	Flavonoides
Canela da China	<i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl	-	-			O / CG	Óleo volátil
Canela do Ceilão	<i>Cinnamomum verum</i> J. Presl	-	-	O	O / CG	O / CG	Óleo volátil
	<i>Cinnamomum zeylanicum</i> Nees						

continuação

Capim limão	<i>Cymbopogon citratus</i> (DC.) Stapf				O / CG	O / CG	Óleo volátil
Cardamomo	<i>Elettaria cardamomum</i> (L.) Maton	-	O			O	Óleo volátil
Carqueja	<i>Baccharis trimera</i> (Less.) DC				O / CG / E	CLAE	Ácidos caféicos
Castanha da Índia	<i>Aesculus hippocastanum</i> L.	-	-		E	E	Glicosídeos triterpênicos
Centela	<i>Centella asiatica</i> (L.) Urban				CLAE	CLAE	Asiaticosídeo
Chapéu de couro	<i>Echinodorus grandiflorus</i> (Cham. &Schltdl.) Micheli					E	Derivados do ácido <i>o</i> -hidroxicinâmico
Cratego	<i>Crataegus</i> spp. <i>Crataegus oxyacantha</i> Linné		-	-		E	Flavonoides
Cúrcuma	<i>Curcuma longa</i> L. <i>Curcuma domestica</i> Valetton		-			O / E	Óleo volátil e Derivados do dicinamoilmetano
Endro	<i>Anethum graveolens</i> L.					O / CG / V	Óleo volátil
Espinheira Santa	<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. exReissek				E	E / CLAE	Taninos
Estévia	<i>Stevia rebaudiana</i> (Bertoni) Bertoni				E / CLAE	E / CLAE	Carboidratos e esteviosídeo
Estramônio	<i>Datura stramonium</i> L.	V	V	V		V	Alcaloides
Genciana	<i>Gentiana lutea</i> L.	-	-		-	-	Não possui
Guaraná	<i>Paullinia cupana</i> Kunth	G	G	G	E	E	Metilxantinas e taninos
Hidraste	<i>Hydrastis canadensis</i> L.	V	G	E	E	CLAE	Hisdrastina e berberina
Hortelã pimenta	<i>Mentha x piperita</i> L.	-				O	Óleo volátil
Laranja amarga	<i>Citrus aurantium</i> L. subsp. <i>Aurantium</i>	-	O			O	Óleo volátil
Maracujá azedo	<i>Passiflora edulis</i> Sims					E	Flavonoides

continuação

Maracujá doce	<i>Passiflora alata</i> Curtis	-	-	-		E	Flavonoides
Meimendo	<i>Hyoscyamus niger</i> L.	V	V			V	Alcaloides
Melissa	<i>Melissa officinalis</i> L.	-				E / CLAE / CG	Derivados hidroxicinâmicos
Noz de cola	<i>Cola nitida</i> (Vent.) A.Chev	G	G		E	E	Taninos e cafeína
Pitangueira	<i>Eugenia uniflora</i> L.				O / CG / E	O / E	Taninos, Flavonoides e Óleo volátil
Polígala	<i>Polygala senega</i> L.	-	-		E	E	Saponinas
Quebra pedra	<i>Phyllanthus niruri</i> L.				E / CLAE	E / CLAE	Taninos
Quebra pedra	<i>Phyllanthus tenellus</i> Roxb				E / CLAE	E / CLAE	Taninos
Quilaia	<i>Quillaja saponaria</i> Mol	-				-	Não possui
Quina amarela	<i>Cinchona calisaya</i> Weddell	V	SQ	SQ		E	Alcaloides
Ratânia	<i>Krameria triandra</i> Ruiz & Pav					E	Taninos
Rauvolfia	<i>Rauvolfia serpentina</i> (L.) Benth. ex Kurz		G			E	Alcaloides
Ruibarbo	<i>Rheum palmatum</i> L. <i>Rheum officinale</i> Baill		-	SQ	E	E	Derivados hidroxiantracênicos
Sabugueiro	<i>Sambucus nigra</i> L.					E / CLAE	Flavonoides
Sabugueiro do Brasil	<i>Sambucus australis</i> Cham. & Schtdl	-				E / CLAE	Flavonoides
Salgueiro branco	<i>Salix alba</i> L.					CLAE	Derivados de salina
Sene	<i>Senna alexandrina</i> P. Miller <i>Cassia acutifolia</i> Delile <i>Cassia angustifolia</i> Vahl	-	-	E	E	E / CLAE	Derivados hidroxiantracênicos

Legenda:

Coloração cinza: presença da monografia na edição correspondente da FB

V= volumetria; E= espectrofotometria; G= gravimetria; CG= cromatografia gasosa; CLAE= cromatografia líquida de alta eficiência; SQ= semi-quantitativo; O= teor de óleo volátil

Monografias para o suco extraído de aloe estavam presentes em edições anteriores, porém, como derivados de plantas não entraram no levantamento, marcou-se a presença da espécie *Aloe vera* apenas na edição atual.

A planta conhecida popularmente por chapéu de couro é representada por duas espécies botânicas comuns no Brasil e muito semelhantes morfologicamente, sendo elas a *Echinodorus grandiflorus* e *Echinodorus macrophyllus* (CATALAN & ITO, 2011). Pelo levantamento realizado constatou-se que na primeira e segunda edição da FB a monografia descrita para esta planta era voltada para a espécie *E. macrophyllus*, porém na quinta edição houve modificação e a monografia está agora descrita para a outra espécie, ou seja, *E. grandiflorus*. Situação semelhante ocorreu para a hortelã pimenta e para ratânia

A hortelã pimenta foi descrita para a espécie *Mentha piperita* na primeira e quinta edição da FB, mas na quarta edição foi apresentada uma monografia para outra espécie, a *Mentha arvensis*. A hortelã é uma planta que apesar de ser popularmente conhecida e representada por várias espécies, estas não podem ser sinonímias, pois dependendo de sua capacidade de hibridização interespecífica, leva a uma identificação sistemática diferente (MAFFEI & SCANNERINI, 1992).

Já no caso da planta conhecida popularmente por ratânia, na primeira e segunda edição ocorrem monografias para a espécie *Krameria argentea* e na FB 5ª edição existe monografia para a espécie *Krameria triandra*. Este gênero, possui cerca de 17 espécies que ocorrem em diferentes ambientes, sendo muito semelhantes, mas não equivalentes (SIMPSON *et al.*, 1979).

A FB 5ª edição apresenta 48 monografias de plantas, e entre estas, 44 apresentam ensaio de doseamento. Das quatro monografias que não apresentam esta análise, a alteia sequer apresenta análise quantitativa e semi-quantitativa. As outras três, genciana, quilaia e baunilha, apresentam testes semi-quantitativos, os quais não estão sendo considerados, como determinação de substâncias extraíveis em álcool, índice de amargor e índice de espuma.

Algumas plantas podem possuir mais de um grupo de compostos como sendo seus marcadores químicos. Na FB 5ª edição isto ocorre em 8 situações, sendo um exemplo o guaraná que apresenta tanto o grupo das metilxantinas como o grupo dos taninos para determinação de teores e garantia da sua qualidade para uso em fitoterápicos.

Em alguns casos, para compostos não voláteis, ocorre o doseamento de um grupo de constituintes por técnicas espectrofotométricas com posterior determinação de apenas um composto de interesse doseado por método mais sensível e específico como CLAE. Já para compostos voláteis situação semelhante ocorre, porém primeiramente existe a determinação do rendimento extrativo dos óleos voláteis com posterior análise de compostos específicos por CG.

Para doseamento de compostos não voláteis, a espinheira santa é um exemplo deste tipo de situação, pois contempla doseamento de taninos totais por reação colorimétrica pelo reagente de Folin-Ciocalteu com leitura espectrofotométrica à 750 nm, utilizando a SQR pirogalol para expressar os resultados, e apresenta ainda determinação do teor do marcador específico epicatequina por CLAE.

Neste mesmo contexto, existe a monografia da planta anis estrelado, para exemplificar o doseamento de compostos voláteis. Primeiramente o teor de óleo é determinado por rendimento extrativo por arraste de vapor, e após a amostra extraída é submetida à CG para determinação individual do composto anetol.

No caso da monografia do endro, tem-se um caso específico para exemplificar doseamento de óleos voláteis por mais de uma técnica. Em sua monografia está representada a técnica de doseamento do teor de óleo pela extração por arraste de vapor com posterior análise de carvona e dilapol, por volumetria e CG, respectivamente.

A volumetria mesmo sendo uma técnica não muito precisa é apresentada ainda para doseamento de alcaloides na FB 5ª edição para as espécies *Atropa belladonna*, *Hyoscyamus niger* e *Datura stramonium*. A técnica consiste em sucessivas extrações dos alcaloides, evaporação em banho, ressuspensão em meio ácido volumétrico e titulação com uma solução volumétrica básica.

No levantamento entre as cinco edições da FB, a planta barbatimão é um exemplo para poder representar a evolução na busca de técnicas mais modernas de determinação quantitativa dos seus marcadores químicos. Esta planta está presente na primeira, segunda, quarta e quinta edições da FB, sendo que na FB I edição não apresentava método de doseamento; na FB II edição já apresentava quantificação de taninos por método semi-quantitativo de turbidez comparada à uma SQR; na FB IV edição evoluiu para doseamento de taninos totais por espectrofotometria; e na FB 5ª edição, além da espectrofotometria para

determinação de taninos totais, houve o incremento da CLAE para determinação de dois marcadores químicos específicos, que neste caso são o ácido gálico e a galocatequina.

Este tipo de avanço é observado para muitas outras plantas, conforme observado na tabela 1, representando deste modo o avanço tecnológico nos métodos quantitativos aplicados à plantas presentes na FB.

Cabe ainda ressaltar perspectivas futuras com base nos aspectos da atualidade analítica, pois pode ser uma tendência para próximas edições. Deste modo, tem-se a busca constante por análises mais rápidas através da cromatografia líquida, a qual fez surgir recentemente a cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) que faz uso de colunas cromatográficas com partículas internas menores que 2 μm , com um máximo de desempenho tornando as análises 20 vezes mais rápidas, em um sistema capaz de trabalhar em altas pressões (MALDANER e JARDIM, 2009).

Um exemplo de estudo mostrando a vantagem de métodos modernos como o CLUE foi desenvolvido por Wang e colaboradores (2012), onde avaliaram a determinação quantitativa de antraquinonas da planta ruibarbo. Conforme relatam em seus resultados e conclusões, o método utilizado foi melhor em comparação ao CLAE, com relação à velocidade, resolução e sensibilidade de análise, reconhecendo uma economia de tempo e um menor consumo de solventes.

O tempo de análise, portanto, torna-se um importante fator de escolha da técnica analítica a ser utilizada durante as rotinas de laboratório, uma vez que a alternativa de métodos mais rápidos vem sendo proposta com base na economia de solventes e agilidade de liberações de produtos. Neste contexto, uma possível tendência de evolução das técnicas analíticas para próximas edições da FB é exatamente esta situação de maior rapidez e busca por técnicas mais “limpas”, ou seja, com menor geração de resíduos químicos.

6. Conclusões

- A FB I edição preconiza técnicas de doseamento para 16,19% das monografias de plantas medicinais, sendo que ocorre predomínio de método quantitativo por volumetria.
- A FB II edição apresenta 51,43% das monografias de plantas com técnicas de doseamento, sendo que o método de gravimetria é o mais preconizado.
- A técnica de doseamento por espectrofotometria para plantas foi introduzida na FB II edição.
- A FB III edição preconiza técnicas de doseamento para 77,27% das monografias de plantas, sendo que ocorre um equilíbrio na prevalência entre os métodos de volumetria, gravimetria e espectrofotometria.
- A FB IV edição apresenta 95,24% das monografias de plantas com técnicas de doseamento, sendo a espectrofotometria a mais citada.
- As técnicas de doseamento para plantas através de CLAE e CG iniciaram a partir da FB IV edição.
- A FB 5ª edição conta com 91,66% de técnicas de doseamento para monografias de plantas, e a espectrofotometria é a mais citada.
- Houve avanço tecnológico nas análises de doseamento das plantas constantes na última edição da FB quando comparadas com métodos utilizados em edições anteriores.

Por fim, pode-se concluir, ao analisar os levantamentos realizados, que há sempre uma tendência em aumentar as análises de doseamento para plantas entre edições da FB. Considerando os avanços analíticos atualmente existentes e seus constantes estudos a fim de melhorar o controle de qualidade efetivo para estas matérias-primas, as próximas edições tendem a buscar técnicas ainda mais confiáveis e práticas para doseamento de marcadores químicos de plantas.

7. Referências

- ATTIMARAD, M.; AHMED, M.K.K; ALDHUBAID, B.E; HARSHA, S. High performance thin layer chromatography: a powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery. **Pharmaceuticals Methods**, v. 2, n.2, p. 71-75, 2011.
- AUSSENAC, T.; LACOMBE, S.; DAYD, J. Quantification of isoflavones by capillary zone electrophoresis in soybean seeds: effects of variety and environment. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.68, p.1480S–1485S, 1998.
- BRANDÃO, A. Farmacopeia Brasileira: O sonho de crescer. **Pharmacia Brasileira**, Brasília: Conselho Regional de Farmácia, v. 3, n. 25, p. 13-15, 2001.
- BRANDÃO, M.G.L.; COSENZA, G.P.; MOREIRA, R.A.; MONTE-MOR, R.L.M. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n.3, p. 408-420, 2006.
- BRANDÃO, M.G.L.; ZANETTI, N.N.S.; OLIVEIRA, G.R.R.; GOULART, L.O.; MONTE-MOR, R. L. M. Other medicinal plants and botanical products from the first edition of the Brazilian Official Pharmacopoeia. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n.1, p. 127-134, 2008.
- BRASIL, Collecção das Leis do Império do Brasil. Decreto nº 828 de 29 de Setembro de 1851. Manda executar o Regulamento da Junta de Hygiene Pública. Parte 2, secção 59, Palácio do Rio de Janeiro, 1851.
- BRASIL, Departamento Nacional de Saúde Pública. Decreto nº 17.509 de 04 de Novembro de 1926. Adota como Código Farmacêutico Brasileiro, a Farmacopeia Brasileira, elaborada pelo farmacêutico Rodolpho Albino Dias da Silva. Presidência da República, Rio de Janeiro, 1926.
- BRASIL, Serviço Nacional de Fiscalização de Medicina e Farmácia. Decreto nº 45.502 de 27 de Fevereiro de 1959. Aprova a 2ª edição da Farmacopeia Brasileira com suas novas inclusões e modificações. Presidência da República, Rio de Janeiro, 1959.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Decreto nº 78.840 de 25 de novembro de 1976. Aprova a 3ª edição da Farmacopeia Brasileira. Brasília: Ministério da Saúde, 1976.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Decreto nº 96.607 de 30 de Agosto de 1988. Aprova a parte I da Quarta Edição da Farmacopeia Brasileira- Generalidades e Métodos de Análise. Brasília: Ministério da Saúde, 1988.
- BRASIL, Congresso Nacional. Lei nº 9.782, de 26 de Janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 1999.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 90, de 16 de março de 2004. Determina a publicação do “Guia para a realização de estudos de toxicidade pré-clínica de fitoterápicos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 91, de 16 de março de 2004. Determina a publicação do “Guia para a realização de alterações, inclusões, notificações e cancelamentos pós-registro de fitoterápicos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Determina a publicação do “Guia para a realização de estudos de estabilidade de medicamentos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos**. Brasília: Ministério da Saúde, 60 p., 2006. (Série B. Textos Básicos de Saúde).

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67 de 08 de Outubro de 2007. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para uso humano em farmácias. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria 782, de 27 de junho de 2008. Determina “Regimento interno da Comissão da Farmacopeia Brasileira (CFB) das disposições preliminares”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2008a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 87 de 21 de Novembro de 2008. Altera o Regulamento Técnico sobre as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2008b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 05 de 11 de dezembro de 2008. Determina a publicação da “Lista de medicamentos fitoterápicos de registro simplificado”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 02 de 30 de março de 2009. Determina a publicação do “Guia para a notificação de lotes-piloto de medicamentos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 37 de 06 de Julho de 2009. Trata da admissibilidade das farmacopeias estrangeiras. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa nº 05 de 31 de março de 2010. Determina a publicação da “Lista de referências bibliográficas para avaliação de segurança e eficácia de medicamentos Fitoterápicos”. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 49 de 23 de Novembro de 2010. Aprova a 5ª edição da Farmacopeia Brasileira. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14 de 31 de Março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17 de 16 de Abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 2010b.

BRASIL, Farmacopeia Brasileira 5.ed. Volume I e II/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 126 p., 2011.

BRUCKNER, C. A.; FOSTER, M.D.; LLMA, L.R.; SYNOVEC, R. E. Column Liquid Chromatography: Equipment and Instrumentation. **Analytical Chemistry**, v. 66, p. 1R-16R, 1994.

CABRAL, D.L.V. **Influência dos parâmetros biométricos sobre o teor de taninos em *Myracrodruo nurundeuva* (ENGL.) FR. ALL. E *Sideroxy lonobtusifolium* (HUMB. EX ROEM. & SCHULT.) T. D. PENN.** Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFPE, Recife, 2009.

CARVALHO, A.C.B.; BALBINO, E.E; MACIEL, A. PERFEITO, J.P.S. Aspectos da legislação no controle dos medicamentos fitoterápicos. **T&C Amazônia**, Ano V, n. 11, p. 26-32, 2007.

CATALAN, A.; ITO, P.R.S. **Comparação botânica, química e de qualidade entre duas espécies de Chapéu-de-Couro.** Projeto para Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia, Universidade Braz Cubas, Mogi das Cruzes, 2011.

DE MARIA, C.A.B; MOREIRA, R.F.A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise. **Química Nova**, v. 30, n. 1, p. 99-105, 2007.

FARMACOPEIA Brasileira 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1988.

FREITAS, A. Estrutura de Mercado do Segmento de Fitoterápicos no contexto atual da Indústria Farmacêutica Brasileira. Brasília: Ministério da Saúde, 2007.

GOMES, F. **Estudo dos compostos voláteis do Alecrim utilizando as técnicas de Microextração em fase sólida (SPME), Hidrodestilação e Extração com Fluido Supercrítico (SFE)**. Dissertação (Mestrado em Química). Programa de Pós-Graduação em Química, UFRGS, Porto Alegre, 2003.

GONÇALVES, M.L.Q. **Boas práticas para medicamentos fitoterápicos em escala magistral no setor público**. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Programa de Pós-Graduação em ciências Farmacêuticas, UFRGS, Porto Alegre, 2009.

KLEIN, T.; LONGHINI, R.; BRUSCHI, M.L.; MELLO, J.C.P. Fitoterápicos: um mercado promissor. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 3, p. 241-248, 2009.

LIANG, Y.; XIE, P.; CHAN, K. Quality control of herbal medicines. **Journal of Chromatography B**, 812, p. 53-70, 2004.

LÓPEZ, C.A.A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. **Ambiente: Gestão e Desenvolvimento**, v. 1, n. 1, p. 19-27. 2006.

LOZHKIN, A.V.; SAKANYAN, E. I. Natural coumarins: Methods of isolation and analysis. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 40, n. 6, 2006.

MAFFEI, M.; SCANNERINI, S. Fatty acid variability in some *Mentha* species. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n. 6, p. 573-582, 1992.

MALDANER, L.; JARDIM, I.C.S.F. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. **Química Nova**, v. 32, n. 1, p. 214-222, 2009.

OLIVEIRA, A.B.; LONGHI, J. G.; ANDRADE, C.A.; MIGUEL, O.G.; MIGUEL, M.D. A normatização dos Fitoterápicos no Brasil. **Visão Acadêmica**, v. 7, n. 2, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/UNICEF. Cuidados Primários de Saúde. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 64 p., 1979.

PONTES, R.M.F.; MONTEIRO, P.F.; RODRIGUES, M.C.S. O uso da fitoterapia no cuidado de crianças atendidas em um centro de saúde do Distrito Federal. **Comum. Ciênc. Saúde**, v. 17, n.2, p. 129-139, 2006.

SILVA, C.R.; GOMES, V.S.; KULKAMP, I.C.; KANIS, L.A. Método espectroscópico para determinação de cumarina em xarope de *Mikania glomerata* Sprengel. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, n.4, p. 594-599, 2008.

SIMÕES, C. M. O; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETRVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**, 5.ed. Porto Alegre/ Florianópolis: UFRGS/EDUFSC. 2003. 1102p.

SIMPSON, B.B.; SEIGLER, D. S.; NEFF, J. L. Lipids from the floral glands of Krameria. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 7, p. 193-194, 1979.

SKOOG, D. A., WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. Fundamentals of analytical chemistry. 8.ed. Belmont:Brooks/Cole-Thompson Learning, 2004.

SOUSA, S. A.; ALVES, S. F.; PAULA, J.A.M.; FIUZA, T.S.; PAULA, J.R.; BARA, M.T.F. Determinação de taninos e metilxantinas no guaraná em pó (*Paullinia cupana* Kunth, Sapindaceae) por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 6, p. 866-870, 2010.

SOUZA, G.H.B.; MELLO, J.C.P.; LOPES, N.P. **Farmacognosia: Coletânea Científica**. Ouro Preto: UFOP, 372 p. 2012a.

SOUZA, G.H.B.; MELLO, J.C.P.; LOPES, N.P. **Revisões em processos e técnicas avançadas de isolamento e determinação estrutural de atividades de plantas medicinais**. Ouro Preto: UFOP, 312 p., 2012 b.

SOUZA-MOREIRA, T.M.; SALGADO, H.R.N.; PIETRO, R.C.L.R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n.3, p. 435-440, 2010.

VIZZOTTO, M.; KROLOW, A.C.; WEBER, G.E.B. **Metabólitos Secundários encontrados em plantas e sua importância**. Pelotas - Embrapa Clima Temperado, 16p, 2010.

WANG, Y.; HUANG, X.; LIANG, Q.; FAN, R.; QIN, F.; GUO, Y.; YAN, K.; LIU, W.; LUO, J.; LI, Y.; MAO, X.; LIU, Z.; ZHOU, H. A Strategy for Detecting Absorbed Bioactive Compounds for Quality Control in the Water Extract of Rhubarb by Ultra Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detector. **Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine Press and Springer-Verlag Berlin Heidelberg**, v. 18, n.9, p. 690-698, 2012.