BIDENS PILOSA L. (ASTERACEAE): CONTRIBUIÇÕES PARA A ELABORAÇÃO DE MONOGRAFIA FARMACOPEICA

Jéssica Bagio, Gabrielle Paganini Bernardi, Tania Mari Belle Bresolin, Luiz Carlos Klein Junior

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: A Bidens pilosa L. é conhecida no Centro Sul do Brasil como uma praga invasora nos cultivos anuais. Encontrada originalmente na América do Sul, acabou se espalhando para o resto do mundo (1; 2). Segundo a descrição de Lorenzi (3), B. pilosa é uma planta herbácea, ereta, com altura que varia de 40 cm a 120 cm, possuindo capacidade de produzir e propagar sementes, com ciclo curto, sendo possível produzir até três gerações por ano. Essas características colaboraram para o seu processo de naturalização no Brasil, onde pode ser encontrada durante todo o ano (3). Esta espécie é popularmente chamada de Picão Preto, sendo utilizada no tratamento da malária e icterícia. Porém, seu uso já foi descrito para o tratamento de outras doenças, como asma, conjuntivite, reumatismo, febre, hipertensão, infecções, alergias, úlceras, além de apresentar ação cicatrizante, diurética, antioxidante e anti-inflamatória (4). Devido ao seu potencial farmacológico, a B. pilosa foi incluída na RENISUS (Relação de Plantas Medicinais de interesse ao SUS) (5). No entanto, não há medicamentos fitoterápicos registrados na ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para a sua comercialização (6), tampouco existe monografia farmacopeica que embase o controle de qualidade dessa droga vegetal. Do ponto de vista químico, dentre os mais de 200 compostos identificados para B. pilosa, pode-se destacar as classes dos flavonoides e dos poliacetilenos (2; 7). Portanto, este trabalho visa a contribuir para estabelecer especificações quanto à identidade, pureza e teor de marcadores, contribuindo para uma futura elaboração de monografia farmacopeica.

Objetivos: Avaliar o comportamento de diferentes amostras frente a métodos analíticos propostos para as partes aéreas de B. pilosa para contribuir com a elaboração de monografia farmacopeica da droga vegetal, incluindo análise botânica, seleção de potenciais marcadores, bem como ensaios de pureza e teor.

Metodologia: 1. Material vegetal: As partes aéreas de B. pilosa foram adquiridas comercialmente, aqui denominadas amostras 1, 2 ou 3. Foi realizado cadastro no SisGen com código ACD1E0F. 2. Ensaios de identificação: 2.1 Análise macroscópica. 2.2 Análise microscópica com cortes a mão livre da amostra hidratada (8). 2.3 Análise por CCD: 1 g da amostra foi levado à refluxo com 10 mL de álcool metílico por 10 minutos, gerando a solução amostra. Rutina foi usada como padrão (2,5 mg/10 mL). As placas foram eluidas com acetado de etila, ácido acético e água (8:1:1, v/v) e reveladas com difenilborato de aminoetanol 1%. 3. Ensaios de Pureza: 3.1 Determinação de matéria estranha: separou-se manualmente os materiais estranhos à droga. Ao final, a matéria estranha foi determinada ponderalmente (8). 3.2 Determinação de cinzas: 3 g da amostra foram transferidos para cadinho, sendo levado à incineração. Ao final do ensaio, realizou-se a pesagem da amostra (8). 3.3 Perda por dessecação: 1 g da amostra foi submetido à

análise em balança de secagem por infravermelho. 3.4 Determinação de substâncias extraíveis: 3.4.1. Método A – Extração a Frio: 4,0 g de amostra foram submetidos à maceração por 24 horas com 100 mL de etanol. O extrato foi evaporado até secar. Ao findar, calculou-se a porcentagem de materiais extraídos em mg/g de material vegetal seco. 3.4.2. Método B – Extração a Quente: 4,0 g de amostra foram submetidos à refluxo utilizando 100 mL de água. Para determinar o peso do extrato, procedeu-se conforme descrito anteriormente. 4. Doseamento de flavonoides totais: 1 g da amostra foi levado à refluxo com 30 ml de etanol 80% por 15 minutos. O processo foi repetido com 10 ml do solvente e avolumado para 50 ml. Após diluição (5:2, v/v), foi adicionado 2 mL de Cloreto de Alumínio 2% (p/v) à 20 mL da amostra e avolumado para 50 mL, armazenado por 30 minutos. Após, a absorbância em 420 nm foi lida e o teor de flavonoides totais presentes na amostra foram expressos em hiperosídeo (8).

Resultados: 1. Ensaios de identificação 1.1 Análise macroscópica: para a amostra 1, os caules apresentavam coloração amarelada com o centro branco. As folhas apresentavam textura seca e rasurada, odor característico da droga vegetal e coloração castanho esverdeado. No capítulo, encontra-se a mistura de flores, frutos e aquênios presentes na planta. A amostra 3, apresentava odor característico da droga vegetal, coloração esverdeada e as folhas textura seca e rasurada. Os caules amarronzados e o capítulo, composto pelas flores, frutos e aquênios, característicos da droga vegetal. Devido à quantidade, não foi possível analisar a amostra 2. 1.2 Análise microscópica: A análise microscópica foi realizada com as amostras 1 e 3 da B. pilosa, previamente preparadas. Foi possível visualizar durante a análise microscópica por meio de uma seção transversal, que as folhas apresentam uma estrutura bifacial de dicotiledônea, com presença de uma fina camada cutícula na epiderme. Na secção histológica transversal, na região da nervura central destaca-se a ocorrência de tricomas tectores nas duas amostras. Há também presença de tricomas cônicos, pluricelulares grandes e pequenos em ambas as superfícies da epiderme. O mesófilo é composto de uma camada de parênquima paliçádico e o clorofiliano de parênquima glandular. Assim, nota-se que ambas as amostras possuem o mesmo perfil no corte transversal, apresentando ducto secretor, mesofilo integro e tricoma secretor com estrias na cutícula de tamanhos maiores, entre cinco ou seis estrias, e outros menores, com duas ou três estrias. Portanto, a descrição apresentada na literatura (5), corresponde com os achados nas amostras, compreendendo ser da mesma espécie, a B. pilosa. 1.3. Análise por Cromatografia em camada delgada (CCD): As CCDs de ambas as amostras apresentaram manchas com coloração amarelada, em região semelhante à mancha obtida da Rutina. Na mesma placa, identificaram-se outras manchas com coloração rosada ao longo da placa, podendo se observar a presença de outros flavonoides nos compostos, mas não foi possível a identificação de quais seriam os outros compostos presentes na B. pilosa. 2. Ensaios de pureza: 2.1 Determinação de matéria estranha: O resultado para as amostras 1 e 2 foram, respectivamente, 1,12% e 1,98% e na amostra 3 não houve material estranho. Conforme a monografia da espécie B. pilosa, desenvolvida pelo Ministério da Saúde (MS) em 2015, o valor de material estranho aceitável é de até 2,0%. Avaliando os resultados obtido com o valor apresentado pelo

MS, nota-se que todas as amostras se encontram dentro do valor estipulado. 2.2 Cinzas Totais: Os resultados foram obtidos através de uma média do peso de 3 cadinhos de cada amostra. Assim, os resultados das amostras 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 6,24; 5,35 e 9,24 %. Conforme a Farmacopeia Brasileira (8) é considerado ideal um valor até 10,0% para o teor de cinzas. Dessa forma, pode-se considerar que as amostras estão dentro dos limites estabelecidos para o teste. 2.3 Perda por dessecação: Os resultados obtidos das amostras 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 13,01%; 13,96% e 12,41%. Ao final dos testes realizados com as amostras de B. pilosa, pode-se observar que todas apresentam resultados similares quanto à perda por dessecação, com pouca variação no tempo de estabilização do peso na balança de IV. 2.3. Determinação de substâncias extraíveis: Para o método a frio, os resultados das amostras 1, 2 e 3 foram, respectivamente: 7,56%, 10% e 9,58%. Já para o método de extração a quente, obteve-se os valores para as amostras 1, 2 e 3, respectivamente: 13,4%, 14,89% e 18,06%. 3. Doseamento de flavonoides totais: Devido à monografia realizada pelo Ministério da Saúde para a B. pilosa (5) apresentar-se de maneira incompleta, utilizou-se como base de cálculo a monografia da calêndula, a qual afirma que não deve conter menos que 0,4% de flavonoides totais, calculados como hiperosídeo. Após a realização do ensaio em triplicata, com as três amostras, obteve-se os valores para as amostras 1, 2 e 3, respectivamente: 0,72%, 0,69% e 2,11%. Dessa forma, observa-se que a B. pilosa apresenta um teor de flavonoides totais superior ao estipulado como mínimo para a calêndula. Destaca-se que na amostra 3 foi obtido um teor superior perante as outras amostras.

Considerações finais: Nota-se, infelizmente, a falta de estudos acerca do controle de qualidade de algumas drogas vegetais, como B. pilosa, o qual acarreta prejuízos nos diferentes estágios de manipulação da matéria vegetais, desde a população que faz o uso da planta de forma popular, bem como a sua possível utilização para o desenvolvimento de fitoterápicos. O presente estudo agrega na construção da monografia, com o implemento de dados para o controle de qualidade das amostras comerciais encontradas no mercado brasileiro. Entretanto, compreende-se a necessidade de repetir o teste com um número maior de amostras, para, assim, estabelecer as faixas de variação aceitáveis, além disso, a importância de ensaios quantitativos para outras classes de compostos presentes na B. pilosa e métodos mais específicos para os marcadores já detectados nas plantas.

Financiamento ou apoio: CNPq Edital Universal (processo 483577/2013-8).

Referências

1) BARTOLOME, A. P.; VILLASEÑOR, I. M.; YANG, W. Bidens pilosa L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. Hindawi Publishing Corporation, v. 2013, p. 51, 2013. 2) SILVA, F. L. et al. Compilation of secondary metabolites from Bidens pilosa L. Molecules, v. 16, n. 2, p. 1070–1102, 2011. 3) LORENZI, H.; MATOS, F. J.; FRANCISCO, J. M. (2002). Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2002. 4) GILBERT, B; ALVES, L. F; FAVORETO, R. Bidens pilosa L. Asteraceae (Compositae; subfamília Heliantheae). Revista Fitos. v. 8, n.1, p. 1-72. 2013. Disponível em: https://revistafitos.far.fiocruz.br/index.php/revista-fitos/article/view/194. Acesso em: 07 abr. 2021. 5) BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e

Insumos Estratégicos. Monografia da espécie Bidens pilosa (Picão-preto). Brasília, p. 73. 2015. Disponível em: https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2017/setembro/11/Monografia-Bidens.pdf. Acesso em: 07 abr. 2021. 6) ANVISA. Consulta medicamentos. 2022. Disponível em: https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/?substancia=21152&situacaoRegistro=V). Acesso em: 21 maio 2022. 7) WANG, R.; WU, Q. X.; SHI, Y. P. Polyacetylenes and flavonoids from the aerial parts of Bidens pilosa. Planta Medica, v. 76, n. 09, p. 893-896, 2010. 8) BRASIL. Formulário de fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, p. 160. 2018.