

APLICAÇÃO DA ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS AO ESTUDO DAS PLANTAS  
MEDICINAIS BRASILEIRAS: CAZEARIA SYLVESTRIS (GUAÇATONGA) E  
STRYPHNONDEDRON BARBATIMAN (BARBATIMÃO)

SANDRA M.VAZ; MITIKO SAIKI; MARINA B.A.VASCONCELLOS; JAIME A.A.  
SERTIE\* ; AULUS BASILE\*

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGETICAS E NUCLEARES - CNEN/SP

\* INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMEDICAS, USP

RESUMO

Aplicando a técnica de ativação com nêutrons na análise de extratos da Cazearia sylvestris e Stryphnondedron barbatiman foram determinados os elementos Br, Ca, Cl, Cs, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb e Zn cujos resultados apresentaram, em geral, uma boa precisão com desvios padrões relativos variando de 1 a 11%. Os resultados das análises de materiais de referências Pepperbush nº 1 do NIES e Citrus Leaves 1572 do NIST indicaram uma boa exatidão com percentagens de erro relativo inferiores a 10%.

INTRODUÇÃO

Com o crescimento das práticas naturalistas e as constantes críticas aos remédios sintetizados a partir de produtos químicos devido ao seu elevado custo na importação e principalmente devidos aos seus efeitos colaterais, o estudo das plantas medicinais ou de seus extratos vem sendo objeto de inúmeras pesquisas de grande interesse das áreas de química, farmacologia e botânica.

Conseqüentemente a análise elementar desses materiais torna-se importante no controle da qualidade dos fitofármacos, no estabelecimento da sua dosagem e na avaliação dos efeitos tóxicos. Os constituintes ativos, sendo produtos de metabolismo das plantas podem conter elementos traços que dependendo dos seus teores podem interferir na ação fisiológica da droga.

Além disso o efeito terapêutico bem como as concentrações dos elementos nos fitofármacos dependem não só da natureza inerente à própria planta, mas também das condições climáticas, das características do meio ambiente e da natureza do solo.

A análise elementar de extratos medicinais além de permitir um profundo estudo de seus usos em condições padronizadas e mais seguras, poderá contribuir para o desenvolvimento da biotecnologia dos produtos naturais dando um incentivo ao cultivo das plantas e a industrialização nacional das drogas naturais a baixo custo.

Relativamente à caracterização de componentes inorgânicos em plantas medicinais ou em seus extratos, diversos trabalhos tem sido apresentados na literatura.

Entre eles destaca-se o trabalho de Kaniyas e Philianos [ 1 ] que determinaram Cs, Cl, Co, Fe, K, Mn, Na, Ni, Rb, Sb, Se e Zn na planta medicinal Helleborus cyclophyllus BOISS por ativação com nêutrons tendo como objetivo comparar as concentrações dos elementos encontrados na planta e no solo onde a planta fora cultivada.

Mumba e colaboradores [ 2 ] analisaram cinco espécies de plantas medicinais aplicando as técnicas de ativação com nêutrons e fluorescência de raios-X para análise de Al, Cl, K, Mg e Si para no futuro controlar as mudanças nas concentrações destes elementos causada

pela poluição ambiental.

Ndiokwere [ 3 ] determinou a concentração de dezoito elementos (Al, Ba, Br, Ca, Cl, Eu, Fe, Ga, K, La, Mn, Na, Sb, Sc, Si, Sm, V e Zn) em dez espécies de plantas medicinais da Nigéria por ativação com nêutrons para estudo e comparação das quantidades dos diversos elementos nas plantas.

Na Índia, Boruah e Goswami [ 4 ] determinaram urânio pelo método de análise SSNTD (detector sólido de traços nucleares) em quatorze plantas e verificaram uma relação entre as propriedades medicinais das plantas analisadas e a concentração de urânio presente.

Mukhammedov e colaboradores [ 5 ] analisaram cinco espécies de plantas medicinais procedentes do Uzbequistão com o objetivo de comparar os resultados do método de análise por ativação com nêutrons e ativação com partículas carregadas na determinação de Ag, As, Au, Bi, Br, Cd, Ce, Co, Fe, Ga, K, La, Ni, P, Rb, Sb, Sc, Sm, Sn, Sr, Ti e V.

Na Hungária, Sziklai e colaboradores [ 6 ] determinaram Cl, Co, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, Sc, V e Zn por ativação com nêutrons não destrutiva em amostras de diversas partes do colorau, com o objetivo de verificar as diferenças nas concentrações dos elementos nas diversas partes da planta.

Também a Divisão de Radioquímica do IPEN - CNEN/SP desde 1987 vem realizando análise elementar de extratos medicinais. Saiki e colaboradores [ 7 ] aplicaram o método instrumental de análise por ativação neutrônica para análise de Al, Br, Ca, Cl, Co, Cs, Fe, K, La, Mg, Mn, Na, Rb, Sb e Zn em extratos de Cordia verbenacea DC (erva baleeira), Folidago microglosa DC (arnica do Brasil) e Petiveria alliacea (guiné).

Na China, Xiao e Qin [ 8 ] determinaram Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Sr e Zn em trinta remédios naturais tradicionais por PIXE e concluíram através de análise estatística dos resultados que estes remédios podem ser separados em dois grupos distintos segundo os seus efeitos farmacológicos tônico e não tônico.

Zhang e colaboradores [ 9 ] analisaram Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mn, Ni, Pb, Sr e Zn em trinta medicamentos naturais tradicionais sendo vinte e quatro tônicos e seis não tônicos pela análise por PIXE, com o objetivo de classificar estes medicamentos de acordo com as concentrações dos elementos pela análise estatística

multivariada.

Recentemente, Campos e Verde [ 10 ] da Universidade Federal do Rio de Janeiro divulgaram os resultados da análise de metais (Ca, Cd, Co, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Ni, Rb e Zn) em extratos de plantas medicinais obtidos em farmácias locais aplicando a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama ou de forno de grafite.

Convém ressaltar também que na 8ª Conferência "Modern Trends in Activation Analysis" realizada recentemente em Viena, foram apresentados dois trabalhos concernentes à análise de elementos traços em plantas medicinais. Kaniyas e colaboradores [ 11 ] analisaram as folhas de Eucalyptus camaldulensis para a determinação das percentagens de óleos essenciais e dos elementos Sb, Cs, Cr, Co, Eu, Fe, Rb, Sc, Sr, Th e Zn na determinação do coeficiente de correlação e correlação múltipla nos dados para estimar a relação entre constituintes ativos e os elementos traços. Fakankun e colaboradores [ 12 ] analisando Mg, K, Ca, Na, Mn, Fe, Zn e P em cinzas das madeiras de cinco plantas medicinais coletadas na Nigéria observaram que a concentração de vários elementos nas cinzas são relativamente mais altas que nas madeiras das plantas tropicais.

O objetivo do presente trabalho foi o de aplicar o método de análise por ativação com nêutrons na análise multielementar em extratos de duas plantas medicinais brasileiras: Cazearia sylvestris conhecida como "guaçatonga", "erva de lagarto" ou "língua de giu" e Stryphnondedron barbatiman conhecida como barbatimão.

#### PARTE EXPERIMENTAL

Extratos de Plantas Medicinais Analisadas. Os extratos das plantas medicinais foram obtidos pelos pesquisadores do Instituto de Ciências Biomédicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP. Estes extratos foram obtidos usando solução alcoólica 70% à temperatura ambiente conforme descrito na ref. [ 13 ]. Após a filtração, a solução foi concentrada sob pressão reduzida a 50°C obtendo-se um material aquoso viscoso, que foi desidratado por liofilização ou secagem num dessecador sob vácuo.

No presente trabalho foram analisados extratos de duas espécies de plantas: a) Cazearia sylvestris da família das Flacourtiáceas que é uma árvore originária da América Tropical sendo bem aclimatada no Brasil principalmente na região do Espírito Santo e apresenta as seguintes propriedades terapêuticas: cicatrizante, antisséptica e fungicida, age contra aftas, sapinhos, herpes simples, feridas, eczemas e picadas de insetos além de ser depurativa do sangue. Foram obtidos dois extratos desta planta utilizando folhas nas formas secas e frescas, separadamente; b) Stryphnondedron barbatiman da família das Leguminosas, uma árvore de cinco a sete metros de altura, nativa do Brasil crescendo desde o Amapá até o Paraná; é utilizado por apresentar propriedades medicinais diuréticas, anti diarreicas, anti hemostáticas e anti leucorreicas, para uso externo é utilizada no tratamento de úlceras.

Procedimento. O método instrumental de análise por ativação com nêutrons (INAA) consistiu em irradiar cerca de 100 mg da amostra, na forma de extrato em pó seco, em envelopes de plástico previamente limpos com ácido nítrico diluído e água, com os padrões sintéticos dos elementos a serem analisados no reator nuclear de pesquisa IEA-R1. Os padrões sintéticos foram preparados pipetando volumes adequados das soluções padrões sobre

tiras de papel de filtro Whatman 42 e deixando-as secar em um dessecador. Na irradiação das amostras com os padrões foram utilizadas duas condições diferentes: a) irradiações curtas de 3 minutos sob fluxo de nêutrons de  $2,7 \times 10^{11} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  onde foram determinados os elementos Cl, Mg, Mn e Na que possuem meias-vidas curtas e b) irradiações longas de 16h foram realizadas para determinação de Br, Ca, Cs, Fe, K, Rb e Zn de meias-vidas longas, realizadas sob fluxo de nêutrons de  $10^{13} \text{ n.cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Após tempos de decaimento adequados foram feitas medidas das atividades com tempos de contagem variando de 180 a 50.000 s. Para estas medidas utilizou-se um sistema para espectrometria gama constituído de um detector de Ge hiperpuro ENERTEC acoplado a um analisador multicanal de raios gama de 4096 canais da EG & G ORTEC - modelo 7450 conectado a um microcomputador Nyda 200 Plus da Monydata, compatível com IBM/PC e eletrônica associada. A resolução (FWHM) deste sistema de contagens foi de 1,15 keV para o fotopico de 122 keV do Co-57 e de 2,5 keV para o fotopico de 1332 keV do Co-60. Os espectros de raios gama obtidos foram analisados usando programa de computação adequado assim como o cálculo dos teores dos elementos.

Para avaliar a exatidão foram analisados os materiais de referência Pepperbush nº 1 procedente do NIES (National Institute for Environmental Studies) do Japão e Citrus Leaves 1572 do NIST (National Institute of Standard and Technology) dos USA utilizando as condições experimentais idênticas às da análise de extratos.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são mostrados os resultados das determinações de Br, Ca, Cl, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb, e Zn obtidos nas análises dos extratos medicinais de Cazearia sylvestris e Stryphnondedron barbatiman. Verifica-se que os resultados apresentam boa reprodutibilidade, com desvios padrões relativos variando de 1 a 11%. Os resultados menos precisos foram obtidos para Mg, com desvios padrões relativos de 11 a 14% devido notadamente à má estatística de contagem.

Fazendo uma comparação entre as concentrações dos elementos obtidas nos dois tipos de extratos da Cazearia sylvestris verifica-se que no extrato proveniente de folhas secas o Ca não foi detectado mas os teores de Cl, Cs, Fe, K, Mg, Na, Rb e Zn foram mais elevados que aqueles extraídos das folhas frescas. Já o extrato de Stryphnondedron barbatiman contém os elementos analisados em níveis mais baixos que na Cazearia sylvestris.

No que concerne aos ensaios farmacológicos dos extratos analisados, estes estudos estão sendo realizados no Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

Os resultados obtidos para os materiais de referência Pepperbush nº 1 e Citrus Leaves 1572 são apresentados na Tabela 2 juntamente com os valores dos certificados [ 14, 15 ].

Para obtenção dos resultados na base seca, os materiais de referência foram secados conforme os procedimentos descritos nos seus respectivos certificados. Na secagem do Pepperbush nº 1 obteve-se uma perda de peso de 5,7% e no caso do Citrus Leaves 1572 obteve-se uma perda de 6,47%. As concentrações dos elementos obtidas das análises são concordantes com os valores dos certificados com percentagens de erro relativo variando de 0,5 a 10%, indicando uma boa exatidão no método utilizado. Também resultados bastante precisos foram obtidos na análise dos materiais de referências com



Tabela 1 - Concentrações dos elementos nos extratos das plantas *Cazearia sylvestris* e *Stryphnodedron barbatiman*

Elemento	<i>Cazearia sylvestris</i>		<i>Stryphnodedron barbatiman</i>
	Seca	fresca	
Br (µg/g)	121,4 ± 0,7 (1%)	121,4 ± 3,9 (3%)	7,15 ± 0,53 (7%)
Ca (µg/g)	ND	2155 ± 162 (7%)	811,9 ± 51,1 (6%)
Cl (%)	3,65 ± 0,36(10%)	2,81 ± 0,15(5%)	0,444 ± 0,045(10%)
Cs (µg/kg)	417 ± 13 (3%)	312,1 ± 8,2 (3%)	420,2 ± 4,9 (1%)
Fe (µg/g)	1742 ± 105 (6%)	90,6 ± 3,8 (4%)	29,5 ± 2,3 (8%)
K (%)	8,55 ± 0,77(9%)	4,46 ± 0,12(3%)	0,565 ± 0,024(4%)
Mg (µg/g)	4177 ± 483 (11%)	1965 ± 258 (13%)	796 ± 110 (14%)
Mn (µg/g)	133,3 ± 3,2 (2%)	248,5 ± 3,2 (1%)	10,8 ± 1,1 (10%)
Na (µg/g)	3815 ± 379 (10%)	2040 ± 148 (7%)	158,3 ± 8,7 (5%)
Rb (µg/g)	129,7 ± 10,3(8%)	109,3 ± 6,5 (6%)	23,9 ± 1,9 (8%)
Zn (µg/g)	112,6 ± 2,1 (2%)	92,0 ± 7,2 (8%)	16,85 ± 0,48 (3%)

ND - não detectado

Os resultados são as médias de 2 a 6 determinações e os valores entre parênteses são os desvios padrões relativos.

Tabela 2 - Análise dos materiais de referência Pepperbush nº 1 e Citrus Leaves 1572

Elemento	Pepperbush nº 1		Citrus Leaves 1572	
	Presente trabalho	Ref.   14	Presente trabalho	Ref.   15
Br (µg/g)	1,56 ± 0,15 (9%)		7,66 ± 0,75 (10%)	8,2*
Ca (%)	1,460 ± 0,085 (6%)	1,38 ± 0,07	3,25 ± 0,18 (6%)	3,15 ± 0,10
Cl (µg/g)	ND		408 ± 12 (3%)	414*
Cs (µg/kg)	1185 ± 63 (5%)	1200*	100,4 ± 8,9 (9%)	98*
Fe (µg/g)	206,7 ± 3,7 (2%)	205 ± 17	85,2 ± 6,3 (7%)	90 ± 10
K (%)	1,51 ± 0,13 (8%)	1,51 ± 0,06	1,79 ± 0,15 (8%)	1,82 ± 0,06
Mg (µg/g)	4273 ± 223 (5%)	4080 ± 200	6315 ± 135 (2%)	5800 ± 302
Mn (µg/g)	1795 ± 182 (10%)	2030 ± 170	22,8 ± 2,8 (12%)	23 ± 2
Na (µg/g)	100,2 ± 6,6 (7%)	106 ± 13	150 ± 11 (7%)	160 ± 20
Rb (µg/g)	73,6 ± 2,1 (3%)	75 ± 4	4,82 ± 0,22 (5%)	4,84 ± 0,06
Zn (µg/g)	333,7 ± 8,2 (2%)	340 ± 20	29,3 ± 2,9 (10%)	29 ± 2

Os resultados são as médias de 3 a 6 determinações. Os valores entre parênteses são os desvios padrões relativos.

(\*) indicam os valores informativos.

desvios padrões relativos inferiores a 12%.

Concluindo, pode-se afirmar que o método instrumental de análise por ativação pode ser satisfatoriamente aplicado ao estudo da composição elementar de plantas medicinais ou de seus extratos.

#### AGRADECIMENTOS

A FAPESP e ao CNPq.

#### REFERÊNCIAS

- [ 1 ] Kanas, G.D., Philianos, S.M., "Determination of Trace Elements in a Medicinal Plant by Neutron Activation Analysis", J. Radioanal. Chem., Vol. 46 pp. 87-93, 1978.
- [ 2 ] Mumba, N.K., Petö, G., Csikai, J., "Determination of Mg, Al, Si, Cl and K in some Medicinal Plants by NAA and REA Methods", Radiochem. Radioanal. Letters, Vol. 52 nº 6, pp. 373-382, 1982.
- [ 3 ] Ndiokwere, Ch.L., "Determination of Constituent Elements in some Nigerian Medicinal Plants by Thermal-Neutron Activation Analysis", J. Radioanal. Nucl. Chem., Letters, Vol. 85 nº 6, pp. 325-338, 1984.
- [ 4 ] Boruah, M., Goswami, T.D., "A Possible Relation between Uranium and Medicinal Properties of Plants", Application to Earth Sciences Space Physics and Nuclear Physics, pp. 107-120, 1986.
- [ 5 ] Mukhammedov, S., Tillaeva, Kh., Bada'lov, N.B., "Determination of the Content of Elements in some Wild Medicinal Plants of Uzbekistan by Radioactivation Analysis", Sov. At. Energy, Vol. 61 nº 6, pp. 1043-1046, 1987.
- [ 6 ] Sziklai, I.L., Ördögh, M., Molnár, E., Szabó, E., "Distribution of Trace and Minor Elements in Hungarian Spice Paprika Plants", J. Radioanal. Nucl. Chem. Articles, Vol. 122 nº 2, pp 233-238, 1988.
- [ 7 ] Saiki, M., Vasconcellos, M.B.A., Sertié, J.A.A., "Determination of Inorganic Components in Brazilian Medicinal Plants by Neutron Activation Analysis", Biological Trace Element Research, Vol. 26/27 nº 7-12, pp. 743, 750, 1990.
- [ 8 ] Xiao, L., Qin, J., "PIXE Determination of Essential Trace Elements in some Traditional Chinese Medicines", Biological Trace Element Research, Vol. 26/27 pp. 751-756, 1990.
- [ 9 ] Zhang, X., Ma, J., Qin, J., Xiao, L., "Multivariate Statistical Treatment of PIXE Analysis of some Traditional Chinese Medicines", J. Radioanal. Nucl. Chem., Vol. 151 nº 2, pp. 319-325, 1991.
- [ 10 ] Campos, R.C., Verde, A.M.L., "Metais em Plantas Medicinais: Conteúdo Total e em Extratos Aquosos". Resumos da 14ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ) - 15 a 18 de maio de 1991.
- [ 11 ] Kanas, G. D., Tsitsa, E., Loukis, A., Kilikoglou, V., "Determination and Statistical Analysis of Trace Element and Active Constituent Concentrations in the Medicinal Plant Eucalyptus camaldulensis Dehn (E. rostratus Schlecht)", Proceedings of 8th International Conference - Modern Trends in Activation Analysis, Physics Department, Technical University of Vienna, 16-20 setembro 1991.
- [ 12 ] Fakankun, O.A., Oluyemi, E.A., Akanle, A.O., "Neutron Activation Analysis of the Ashes of some Medicinally Used Tropical Woods", Proceedings of 8th International Conference - Modern Trends in Activation Analysis Physics Department, Technical University of Vienna, 16-20, setembro 1991.
- [ 13 ] Farmacopéia Brasileira Oficializada pelo Governo Federal pelo Decreto nº 78840 de 25 de novembro de 1976, 3ª ed., Organização Andrei Editora S.A., São Paulo, 1977, pg. 946.
- [ 14 ] Certificate for NIES Certified Reference Material nº 1 "Pepperbush" National Institute for Environmental Studies. Environmental Agency of Japan, 1980.
- [ 15 ] Certificate of Analysis-Standard Reference Material 1572 Citrus Leaves, National Bureau of Standards, U.S.A., 1982.

#### SUMMARY

Neutron activation analysis was applied for the determination of elements Br, Ca, Cl, Cs, Fe, K, Mg, Mn, Na, Rb and Zn in medicinal extracts from Cazearia sylvestris and Stryphnodedron barbatiman plants. Results obtained in these analyses generally presented a good precision with relative standard deviations varying from 1 to 11%. Analyses of NIES nº 1 Pepperbush and NIST 1572 Citrus leaves reference materials showed a good accuracy of the method with relative errors lower than 10%.