

# ANÁLISE POR ATIVAÇÃO COM NÊUTRONS DE FITOTERÁPICOS OBTIDOS DE PLANTAS MEDICINAIS

**Henrique S. Moreira<sup>1,2</sup>, Mitiko Saiki<sup>1</sup>, e Marina B. A. Vasconcellos<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN / CNEN - SP) – Cidade Universitária  
Av. Professor Lineu Prestes 2242  
05508-000 São Paulo, SP  
[hs\\_moreira@hotmail.com](mailto:hs_moreira@hotmail.com)  
[mitiko@ipen.br](mailto:mitiko@ipen.br)  
[mbvascon@ipen.br](mailto:mbvascon@ipen.br)

<sup>2</sup>Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Cidade Universitária  
Universidade de São Paulo  
Av. Professor Lineu Prestes 580  
05508-900 São Paulo, SP  
[hs\\_moreira@hotmail.com](mailto:hs_moreira@hotmail.com)

## RESUMO

As plantas medicinais têm sido usadas por diversas populações no tratamento de vários tipos de doenças. Atualmente, os fitoterápicos conquistam espaço entre diversos medicamentos sintéticos por serem considerados produtos naturais. O objetivo deste trabalho foi determinar os constituintes inorgânicos em amostras de fitoterápicos para posterior estudo da relação existente entre as concentrações dos elementos encontrados e os seus possíveis efeitos terapêuticos. As amostras de fitoterápicos (Centelha asiática, Ginkgo biloba e Ginseng) adquiridas em cápsulas, foram analisadas pelo método de análise por ativação com nêutrons (NAA). As amostras e padrões sintéticos de elementos foram irradiados por 16 horas no reator de pesquisa IEA-R1 sob fluxo de nêutrons térmicos de cerca de  $3,6 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . As medidas das atividades foram realizadas em um espectrômetro de raios gama constituído de um detector de Ge hiperpuro e eletrônica associada. As concentrações de As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn foram determinadas nos fitoterápicos. A amostra de Centelha asiática apresentou concentrações mais altas de Br, Co, Cr, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn. Foram determinados na amostra de Ginkgo biloba os níveis mais altos de As e Ca, enquanto na amostra de Ginseng não foi detectado o elemento As. Para o controle de qualidade, os materiais de referência “INCT-TL-1 Tea Leaves” e “INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs” foram também analisados. Os resultados encontrados mostraram que o método da NAA é apropriado para analisar estes tipos de materiais devido sua simplicidade, capacidade multielementar e qualidade dos resultados obtidos.

## 1. INTRODUÇÃO

Há milhares de anos plantas medicinais têm sido usadas para tratamentos de doenças, melhorias na qualidade de vida, ou como elementos de rituais de diversas populações e tribos por meio de infusões, aplicações sobre a pele, ingestão e inalação. Dentre estas populações se destacam as de países orientais, principalmente China e Japão onde seu uso ainda é bastante difundido e pesquisado.

Atualmente, os fitoterápicos conquistam espaço entre diversos medicamentos sintéticos por serem considerados produtos naturais, gerando na população a sensação de menor agressividade à saúde em relação aos sintéticos, além de apresentarem menor custo no seu

desenvolvimento e aquisição e por não necessitar o requisito da prescrição médica para serem ministrados [1].

Apesar da maioria dos princípios ativos estarem ligados às moléculas orgânicas, é de suma importância analisar as concentrações de elementos traço presentes individualmente, já que estes podem influenciar na ação farmacológica e também devido ao papel que certos oligoelementos desempenham na saúde humana, ou mesmo podem ser prejudiciais à saúde dependendo de suas concentrações.

Este trabalho tem como objetivo determinar os constituintes inorgânicos em amostras de fitoterápicos para posterior análise da relação existente entre as concentrações observadas dos elementos encontrados e os seus possíveis efeitos terapêuticos.

## **2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL**

### **2.1. Amostras de Fitoterápicos Analisadas**

As amostras de fitoterápicos foram adquiridas em uma loja de produtos naturais, na forma sólida (em pó), em cápsulas e armazenadas em potes de plástico. As amostras de fitoterápicos não receberam nenhum tratamento prévio para análise. Estes fitoterápicos analisados foram os seguintes: Centelha asiática (*Hydrocotyle asiatica* da família do *Apiaceae*) que possui ação sobre a circulação sanguínea, sendo utilizada como coadjuvante nos quadros de celulite; Ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* da família do *Ginkgoaceae*) que possui ação vaso dilatadora e antioxidante, prevenindo o envelhecimento e doenças cardiovasculares, sendo também utilizada nos casos de vertigens, labirintite, dificuldade de concentração e lapsos de memória; Ginseng (*Pfaffia paniculata*) que apresenta ação estimulante do sistema nervoso central, melhorando as funções de memória, cansaço mental e estresse.

### **2.2. Análise de Materiais de Referência Certificados**

Para avaliar a qualidade dos resultados analíticos com relação a precisão e exatidão, foram analisados os materiais de referência INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs [2] e INCT-TL-1 Tea Leaves [3] procedentes do Institute of Nuclear Chemistry and Technology (INCT), Poland. Estes materiais estavam na forma sólida (em pó) e foram armazenados em dessecador na presença de sílica para evitar absorção de umidade.

### **2.3. Determinação de Umidade nas Amostras de Fitoterápicos e de Materiais de Referência Certificados**

As percentagens de massa perdida durante a secagem em cada um dos materiais foram determinadas pesando-se cerca de 200 mg de cada amostra em pesa-filtros usando a balança analítica da marca Mettler e depois os deixando por cerca de 24 horas em estufa a 85°C. Após um período de 20 minutos de resfriamento do material à temperatura ambiente, foi realizada sua pesagem. As percentagens de perda de umidade obtidas foram: 7,57% para Centelha asiática; 4,96% para Ginkgo biloba; 5,17% para Ginseng; 7,89% para INCT-MPH-2

Mixed Polish Herbs e 7,14% para INCT-TL-1 Tea Leaves. Estas percentagens foram utilizadas no cálculo das concentrações de elementos na base seca.

#### **2.4. Procedimento para Análise por Ativação com Nêutrons**

A partir de soluções padrões de elementos adquiridas da *Spex Certiprep USA* foram preparadas soluções simples ou mistas fazendo a diluição usando pipetador automático da marca *Eppendorf* e balões volumétricos previamente verificados quanto à sua calibração. Pipetou-se 50 $\mu$ L de cada uma das soluções padrão em tiras de papel-filtro Whatman N<sup>o</sup>40 de dimensões 6,0 cm x 1,5 cm. As tiras de papel contendo alíquotas das soluções pipetadas foram colocadas no dessecador para secagem. Posteriormente estas tiras foram dobradas com auxílio de uma pinça e colocadas em invólucros de polietileno de dimensões 1 cm x 2 cm, os quais foram selados com auxílio de ferro elétrico para solda e folha de celofane.

Cerca de 150 a 200 mg de cada amostra e dos materiais certificados pesados em invólucros de polietileno foram irradiados juntamente com os padrões sintéticos de elementos no reator nuclear IEA-R1. Para a irradiação, cada uma das amostras, materiais certificados e padrões sintéticos colocados em invólucros de polietileno foram envoltos com folhas de alumínio. O conjunto contendo amostras, materiais certificados e padrões foram irradiados num dispositivo de alumínio chamado de “coelho”, um tubo cilíndrico de medidas 7 cm de altura por 2 cm de diâmetro. O tempo de irradiação foi de 16 horas sob fluxo de nêutrons térmicos de cerca de  $3,6 \times 10^{12} \text{ n cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Após cerca de 5 dias de decaimento, as amostras, materiais de referência certificados e padrões foram montados em suportes de aço inoxidável ("panelinhas"), fixando-os usando fita gomada.

As medições das atividades gama foram feitas utilizando um detector de Ge hiperpuro ligado a um espectrômetro de raios gama previamente verificado quanto ao seu funcionamento. O tempo de medição dos padrões foi de 6000 s e das amostras e materiais de referência variou de 25000 a 60000 s. Foram feitas medições para diferentes tempos de decaimento dos radioisótopos. Os espectros gama obtidos foram gravados em disquetes e depois processados usando o programa de computador VISPECT2 que fornece as energias dos raios gama e taxa de contagens. A identificação dos radioisótopos formados foi feita pela meia-vida e energia dos raios gama. As concentrações dos elementos foram calculadas pelo método comparativo.

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Na Tabela 1 estão os resultados das determinações de As, Br, Ca, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn obtidos nos fitoterápicos. Estes resultados mostram que a Centelha asiática apresentou concentrações mais altas de Br, Co, Cr, Cs, Fe, K, La, Na, Rb, Sc, Se e Zn que Ginkgo biloba e Ginseng. Já os teores de As e Ca mais elevados foram obtidos no fitoterápico Ginkgo biloba.

**Tabela 1. Concentração dos elementos nos fitoterápicos**

Elemento	Centelha asiática	Ginkgo biloba	Ginseng
	Média ± DP <sup>a</sup>	Média ± DP	Média ± DP
As, ng g <sup>-1</sup>	263 ± 55	301 ± 34	ND <sup>b</sup>
Br, µg g <sup>-1</sup>	71,8 ± 2,7	3,76 ± 0,20	14,1 ± 1,2
Ca, %	0,838 ± 0,055	2,084 ± 0,060	0,370 ± 0,013
Co, µg g <sup>-1</sup>	1,79 ± 0,11	0,279 ± 0,011	0,557 ± 0,012
Cr, µg g <sup>-1</sup>	7,75 ± 0,85	1,665 ± 0,050	0,349 ± 0,019
Cs, µg g <sup>-1</sup>	286 ± 21	148,0 ± 4,7	290,6 ± 7,5
Fe, µg g <sup>-1</sup>	4506 ± 173	731 ± 20	290 ± 30
K, %	2,79 ± 0,33	0,837 ± 0,088	1,213 ± 0,073
La, µg g <sup>-1</sup>	9,84 ± 0,67	2,032 ± 0,068	1,96 ± 0,12
Na, µg g <sup>-1</sup>	588 ± 33	537 ± 22	116,5 ± 4,6
Rb, µg g <sup>-1</sup>	131,8 ± 6,4	6,18 ± 0,16	26,72 ± 0,74
Sc, ng g <sup>-1</sup>	1044 ± 34	187,9 ± 9,3	68,9 ± 2,0
Se, ng g <sup>-1</sup>	232 ± 46	181 ± 30	77,1 ± 5,0
Zn, µg g <sup>-1</sup>	75,3 ± 2,5	11,20 ± 0,59	11,15 ± 0,35

<sup>a</sup> Média e Desvio padrão de 3 a 4 determinações; <sup>b</sup> Elemento não detectado

Em relação aos elementos encontrados nos fitoterápicos convém salientar que Ca é o principal constituinte de ossos e dentes [4]. Este elemento foi encontrado em níveis percentuais nas amostras analisadas, o que pode explicar a ausência de efeitos colaterais dos fitoterápicos relacionados a lesões estomacais [5]. A alta concentração deste elemento foi verificado também em chás de ervas e suas infusões por Nookabkaew et al. [6]

O elemento K apresenta ação diurética e a de alterar o ritmo cardíaco. A atuação da Centelha asiática no emagrecimento provavelmente se deve ao alto teor de K presente neste fitoterápico. Este elemento quando usado junto com o Na, previne aumento da pressão arterial, além de manter o balanço dos fluidos dentro e fora das células [4,5]. O As conhecido como elemento tóxico foi detectado nos fitoterápicos, porém em quantidades muito baixas. O As pode causar doenças como conjuntivite, doenças cardiovasculares distúrbios no sistema nervoso, câncer de pele e gangrena nos membros, caso haja longa exposição ao constituinte [7]. Como no caso as concentrações encontradas foram baixas, não são esperados tais problemas com o uso destes fitoterápicos.

Nos fitoterápicos analisados foram também detectados os elementos essenciais como Cr, Co, Se e Zn. Co está envolvido na formação de células nervosas e de formação do sangue [4] e é um componente central da vitamina B12. A ausência de cromo provoca uma intolerância à glicose, e como consequência o aparecimento de diversos distúrbios. Se e Zn são usados como antioxidantes no campo de medicina ortomolecular [5]. Zn tem propriedades relacionadas à prevenção de diarreia [4].

Br é conhecido como elemento essencial para mamíferos e sua principal origem nas plantas se deve à aplicação no solo de pesticidas contendo brometo de metila [4]. Entre os

fitoterápicos analisados, a Centelha asiática foi o que apresentou a mais alta concentração deste elemento. Fe é um elemento essencial para os seres humanos, pois participa da formação de diversas proteínas que contêm os grupo heme, como a hemoglobina, e é sabido que sua falta causa doenças como anemia.

Na Tabela 2 estão os resultados obtidos nas análises dos materiais de referência INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs e INCT-TL-1 Tea Leaves. A comparação dos dados obtidos com os valores dos certificados mostrou que o método é válido para análise de diversos elementos. Os erros relativos percentuais obtidos foram menores que 11%, com exceção do arsênio no material INCT-TL-1 Tea Leaves. Os desvios padrão relativos variaram de 1,6% a 13,7% no material Mixed Polish Herbs e de 1,0% a 13,1% no material Tea Leaves, indicando uma boa precisão dos resultados obtidos.

**Tabela 2. Concentrações dos elementos encontrados nos materiais de referência INCT-MPH-2 Mixed Polish Herbs e INCT-TL-1 Tea Leaves.**

Elemento	Mixed Polish Herbs			Tea Leaves		
	Média ± DP (n) <sup>a</sup>	ER <sup>b</sup> (%)	Valor do Certificado [2]	Média ± DP (n)	ER (%)	Valor do Certificado [3]
As, ng g <sup>-1</sup>	172 ± 9 (3)	10,1	191 ± 23	80 ± 10 (3)	24,2	106 ± 21
Br, µg g <sup>-1</sup>	7,57 ± 0,12 (2)	1,8	7,71 ± 0,61	13,0 ± 1,1 (3)	5,8	12,3 ± 1,0
Ca, %	0,992 ± 0,096 (2)	8,2	1,08 ± 0,07	0,576 ± 0,014 (3)	1,0	0,582 ± 0,052
Co, ng g <sup>-1</sup>	209,1 ± 8,6 (2)	0,5	210 ± 25	400,4 ± 8,4 (3)	3,5	387 ± 42
Cr, µg g <sup>-1</sup>	1,739 ± 0,057 (3)	2,9	1,69 ± 0,13	1,972 ± 0,026 (2)	3,2	1,91 ± 0,22
Cs, ng g <sup>-1</sup>	82,0 ± 8,2 (3)	7,9	76,0 ± 7,0	3,604 ± 0,037 (3)	0,2	3,61 ± 0,37
Fe, µg g <sup>-1</sup>	507 ± 16 (3)		(460) <sup>c</sup>	547 ± 23 (3)		(432)
K, %	1,940 ± 0,030 (3)	1,6	1,91 ± 0,12	1,795 ± 0,056 (2)	5,6	1,70 ± 0,12
La, ng g <sup>-1</sup>	546 ± 75 (3)	4,3	571 ± 46	0,947 ± 0,024 (3)	5,2	1,00 ± 0,07
Na, µg g <sup>-1</sup>	435 ± 27 (3)		(350)	23,62 ± 0,59 (3)	4,4	24,7 ± 3,2
Rb, µg g <sup>-1</sup>	10,99 ± 0,61 (3)	2,7	10,7 ± 0,7	83,1 ± 1,9 (3)	1,9	81,5 ± 6,5
Sc, ng g <sup>-1</sup>	118,7 ± 5,7 (3)	3,5	123 ± 9	244,8 ± 5,9 (3)	8,0	266 ± 24
Zn, µg g <sup>-1</sup>	32,6 ± 1,4 (3)	2,7	33,5 ± 2,1	35,42 ± 0,81 (3)	2,1	34,7 ± 2,7

<sup>a</sup> Média e desvio padrão e n = número de determinações; <sup>b</sup> Erro relativo em percentagem; <sup>c</sup> Valor informativo.

#### 4. CONCLUSÕES

O método de Análise por Ativação com Nêutrons mostrou-se muito eficaz na determinação de diversos elementos presentes em uma ampla faixa de concentração nos fitoterápicos. A precisão e exatidão dos resultados obtidos nos materiais de referência foram satisfatórias.

A amostra de Centelha asiática apresentou altas concentrações de constituintes inorgânicos essenciais à saúde humana quando comparados com as amostras de Ginkgo biloba e Ginseng. Ginkgo biloba no entanto apresentou altas concentrações de cálcio, elemento importante no combate a doenças como osteoporose. Ginseng destacou-se por não ter apresentado As, elemento considerado tóxico à saúde humana.

### AGRADECIMENTOS

À FAPESP e ao CNPQ pelo apoio financeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. E. ERNST, “Toxic heavy metals and undeclared drugs in Asian herbal medicines”, *Pharm. Sci.*, **23**, pp. 136-139 (2002).
2. INCT, “Polish Certified Reference Material - Mixed Polish Herbs (INCT-MPH-2)”, *Institute of Nuclear Chemistry and Technology*, Dorodna 16, 03-195 Warszawa, Poland, (October 31, 2002).
3. INCT, “Polish Certified Reference Material - Tea Leaves (INCT-TL-1)”, *Institute of Nuclear Chemistry and Technology*, Dorodna 16, 03-195 Warszawa, Poland, (October 31, 2002).
4. Y. SERFOR-ARMAH; B.J.B. NYARKO; E.H.K. AKAHO; A.W.K. KYERE; S. OSAE; K. OPPONG-BOACHIE; E. K. OSAE, “Activation analysis of some essential elements in five medicinal plants used in Ghana”, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **250**, pp. 173-176 (2001).
5. S. M. VAZ; M. SAIKI; M. B. A. VASCONCELLOS; J. A. A. SERTIÉ, “Neutron activation analysis of medicinal plant extracts”, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, Articles, **195**, pp. 185-193, (1995).
6. S. NOOKABKAEW; N. RANGKADILOK; J. SATAYAVIVAD, “Determination of trace elements in herbal tea products and their infusions consumed in Thailand”, *J. Agric. Food Chem.*, **54**, pp. 6939-6944, (2006).
7. C. M. BARRA; R. E. SANTELLI; J. J. ABRÃO; M. de la GUARDIA, “Especiação de Arsênio – Uma Revisão”, *Quim. Nova*, **23**, pp. 58-70, (2000).