
AVALIAÇÃO COMPARATIVA DE CERTIFICADOS DE ANÁLISES DE EMPRESAS QUE COMERCIALIZAM TINTURA DE *Calendula officinalis* L. (ASTERACEAE)

COMPARATIVE EVALUATION OF CERTIFICATES OF ANALYSIS FROM SUPPLIERS OF TINCTURE OF *Calendula officinalis* L. (ASTERACEAE)

Júlio César Borella¹; Juliana Coelho Lopes Teixeira²

¹Professor Titular da disciplina de Farmacognosia, Curso de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP. Responsável técnico pelo Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto.

²Auxiliar do Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto.

E-mail para correspondência: jborella@unaerp.br.

RESUMO:

Selecionamos oito certificados de análises fornecidos por empresas que comercializam tintura de *Calendula officinalis* L. com o objetivo de avaliar a presença de informações que sustentem a identificação botânica, detalhes do processo de extração, controle de qualidade, especificações e esclarecimentos sobre o produto. Após avaliação, concluímos que há padronização em relação à apresentação dos itens declarados. No entanto, observamos grandes variações relacionadas com o prazo de validade (333%), resíduo seco (138%) e omissão de informações referente à proporção entre droga e solvente (37,5%). Observamos também falta de clareza em relação à citação das referências utilizadas para propor os intervalos de normalidade dos testes (87,5%). O controle de qualidade químico qualitativo e quantitativo dos princípios ativos do insumo quase inexistente (12,5%). Análises microbiológicas sobre o insumo não foram citadas em nenhum dos certificados (0,0%). Deste modo, concluímos que certificados de análises de tinturas de *Calêndula* devem ser avaliados com cuidado e restrições em relação às informações apresentadas e, se necessário, desenvolver análises complementares para a certificação da qualidade do produto ou devolvê-lo ao fornecedor, requisitando certificados mais completos e conclusivos.

Palavras-chave: Medicamentos Fitoterápicos; Extratos Vegetais; Controle de Qualidade.

ABSTRACT:

We selected eight certificates of analysis provided by companies that sell tincture of *Calendula officinalis* L. in order to assess the presence of information to support the

botanical identification, details of the extraction process, quality control, specifications and clarifications about the product. After evaluated we conclude that there is standardization in relation to the presentation of the declared items. However, we observed large variations of validity period (333%), dry residue (138%) and omission of information concerning the drug and solvent ratio (37.5%). We also observed absence of clarity in citation of references used to propose the ranges of normality of tests (87.5%). Qualitative and quantitative chemical analysis of tinctures there are hardly any (12.5%). Microbiological analysis was not mentioned in any of the certificates (0.0%). Thus we conclude that certificates of analysis Marigold tinctures should be evaluated carefully and restrictions regarding the information presented and, if necessary, to development additional analysis to certify the quality of the product or return it to the supplier, requesting certificate more complete and conclusive.

Key words: Phytotherapeutic Drugs; Plant Extracts; Quality Control.

1. INTRODUÇÃO

A fitoterapia, nas últimas décadas, voltou a ganhar adeptos junto à população mundial com o crescente consumo de fitoterápicos (CALIXTO; SIQUEIRA, 2008; KLEIN *et al.*, 2009). No entanto, para sua produção, quer seja em escala industrial ou em preparações magistrais, há necessidade de se utilizar como ativos, somente as misturas de substâncias que os vegetais sintetizam, na forma de extratos (BRASIL, 2010; CARVALHO *et al.*, 2012). Esses extratos podem ser obtidos por diferentes processos, resultando em extratos secos, extratos fluídos, tinturas, entre outros. As tinturas, normalmente são constituídas de preparações produzidas utilizando-se a proporção de uma parte de droga vegetal para cada 2 a 10 partes de líquido extrator. Nas preparações fitoterápicas, as tinturas utilizadas rotineiramente são aquelas produzidas na proporção de 1:5 (20%), ou seja, para produzir 1000 mL de tintura são necessários 200g de droga vegetal. Na homeopatia, por sua vez, as denominadas tinturas-mãe são normalmente preparadas na proporção de 1:10, ou seja, para obter 1000 mL dessa preparação são necessários somente 100g da droga vegetal. Independentemente dessas proporções, a técnica de preparo pode também ocorrer por processos variados, como a maceração, percolação e turboextração. Além disso, o líquido extrator que pode ser utilizado para obtê-las é normalmente misturas hidroetanólicas em variadas concentrações (MARQUES, 2005; SONAGLIO *et al.*, 2007). Deste modo, percebe-se que, apesar de ser denominada genericamente por tintura, esse tipo de preparação pode apresentar características físicas e químicas bastante diversas.

Calendula officinalis L., pertencente à família Asteraceae, é um vegetal com vasta utilização na fitoterapia devido às suas ações anti-inflamatória, antioxidante,

antimicrobiana, epitelizante e analgésica. Deste modo, é uma planta de primeira escolha para ação cicatrizante em preparações tópicas (LEACH, 2008). Seu farmacógeno é constituído das inflorescências que contém em seu fitocomplexo óleos voláteis, carotenoides, flavonoides, saponinas, entre outros (CITADINI-ZANETTE, 2012). É muito comum o uso dessa planta empregando-se a tintura, que posteriormente pode ser incorporada em diversas formas farmacêuticas (NUNES *et al.*, 2009; BORELLA *et al.*, 2010). Sendo assim, há grande consumo desse tipo de extrato por parte de farmácias que manipulam formulações contendo essa espécie. A venda desses insumos para as farmácias se dá à custa de fornecedores que podem ou não ser seus produtores. Porém, independentemente disso, eles devem submetê-los a testes que avaliem sua qualidade. Essas avaliações devem ser subsidiadas por testes descritos em literatura especializada como as Farmacopeias ou outras obras com essa finalidade e que são aceitas pelos órgãos de vigilância sanitária. Se houver coerência em relação aos testes propostos, seus resultados poderão nos indicar a real condição daquele insumo. Certificados de análise, que são laudos de controle de qualidade realizado pelo produtor ou fornecedor, devem ser expedidos para cada lote e enviados anexo aos produtos adquiridos pelas farmácias. Esse documento deve descrever as análises que foram realizadas concluindo se o insumo está apto a ser utilizado na área farmacêutica (BONFILIO *et al.*, 2010).

Tendo esse cenário com real na relação entre farmácias e fornecedores, pode-se especular sobre a clareza e efetividade das informações veiculadas nesses certificados de análise. Há uniformidade de critérios e informações entre os diversos fornecedores? Tendo como base somente as informações incluídas nesse documento, podemos concluir sobre a qualidade desses insumos farmacêuticos? Nesse aspecto, esse trabalho apresenta os resultados de pesquisa documental a partir de um estudo comparativo relativo às informações presentes em diversos certificados de análise para a tintura de Calêndula apresentados por diversas empresas que fornecem insumos para farmácias de manipulação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Amostragem

Inicialmente oito certificados de qualidade de tintura de Calêndula foram obtidos aleatoriamente dos arquivos do Laboratório de Manipulação Farmacêutica da Secretaria Municipal de Saúde de Ribeirão Preto, enviados pelos fornecedores desse insumo durante os anos de 2011 a 2012.

2.2 Organização, coleta e análise dos dados

As análises dos certificados consistiram na sua inspeção onde foi observada a

ocorrência de citações relativas aos seguintes itens:

- Identificação botânica;
- Farmacógeno;
- Validade do produto;
- Características organolépticas (cor, odor e sabor);
- Proporção droga vegetal:solvente;
- Teor alcoólico;
- Processo de extração;
- Densidade;
- pH;
- Testes de solubilidade;
- Resíduo seco;
- Análises qualitativas dos princípios ativos;
- Análises quantitativas dos princípios ativos;
- Análises microbiológicas;
- Cuidados com o produto e sua armazenagem;
- Responsável técnico.

Os dados acima foram compilados para cada certificado de análise e cálculos em porcentagem dessas compilações foram realizados no programa Microsoft Office Excel 2007.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após compilação das informações contidas nos certificados de qualidade de empresas que comercializam tintura de Calêndula foi possível integralizar os resultados na tabela 1. Observamos que, em relação à identificação botânica, indicação do farmacógeno, características organolépticas (cor, odor e sabor), testes de solubilidade (em água, etanol e propilenoglicol), informações sobre armazenagem e cuidados com o produto, há semelhanças nos dados e resultados disponibilizados nos certificados de análises. Somente um deles (12,5%) não traz informações acerca de armazenamento e cuidados com o produto (Certificado II) e outro tenta ser mais descritivo nas análises organolépticas (odor e sabor) (Certificado I). Cinco dos oito certificados analisados (62,5%) não traz o teste de solubilidade usando propilenoglicol (Certificados I, III, V, VI e VII). Todos os certificados (100%) são assinados pelos farmacêuticos responsáveis com os respectivos números de inscrição no Conselho Regional de Farmácia.

Com relação à densidade e pH, houve diferenças entre os valores apresentados que variaram de 5,00 a 5,72 (variação de 14,4%) e para densidade de 0,890 a 0,915 g/mL (variação de 2,8%). Oliveira e Berretta (2007) avaliaram tinturas de

C. officinalis do mercado e obtiveram valores de 5,45 a 5,59 para pH (variação de 2,6%) e 0,904 a 0,914 g/mL para densidade (variação de 1,1%). Borella e Carvalho (2011) pesquisando tinturas de Calêndula vendidas em farmácias de manipulação avaliaram pH entre 5,19 a 5,76 (variação de 1,1%) e densidade variando de 0,935 a 0,978 g/mL (variação de 4,6%). É importante ressaltar que parâmetros físico-químicos também podem refletir como essas tinturas foram produzidas. Se há variações nesses valores entre as amostras, é provável que os processos utilizados para sua obtenção não foram os mesmos.

Com relação ao teor alcoólico do solvente utilizado na produção das tinturas, observamos o uso de soluções hidroetanólicas que variam de 59% a 70% v/v (variação de 18,0%). Oliveira e Berretta (2007) encontraram valores próximos a esses (entre 55% a 65% v/v – variação de 18,2%). Essas variações podem interferir nos tipos e quantidades de princípios ativos extraídos por esses solventes, produzindo tinturas com diferentes características. O tipo de processo extrativo também é fator que pode interferir nesses parâmetros e somente um dos oito certificados de análise avaliados (12,5%) citou o processo utilizado para obtenção da tintura que foi a percolação (Certificado I).

Algo mais grave aparece quando analisamos o resíduo seco especificado nos diversos certificados. Esse teste mensura a quantidade de substâncias não voláteis que foram extraídas pelo processo. Para aqueles certificados que apresentaram essa informação (somente quatro dos oito analisados – 50,0%), houve uma variação de 138% (1,3 a 3,1% p/p). Outros estudos também obtiveram variações extremamente altas. Oliveira e Berretta (2007) na avaliação de tinturas de Calêndula disponíveis no mercado obtiveram resíduos secos em tinturas com 2,20% a 6,44% p/p (193% de variação), enquanto Borella e Carvalho (2011) na pesquisa com o setor de farmácias de manipulação obtiveram tinturas com 0,9% a 3,8% p/p (322% de variação). A proporção entre droga e solvente utilizado no processo de extração é outro fator importante para estabelecer a concentração final de ativos na tintura. No entanto, somente cinco dos oito certificados (62,5%) citaram esse valor (1:5 ou 20% nos certificados I, III, V, VI e VII). Por outro lado, recentemente houve a publicação por parte da Farmacopeia Brasileira, do Formulário de Fitoterápicos (2011), no qual estão registradas formulações de uso rotineiro na Fitoterapia. Nele está incluída a tintura de Calêndula. Num primeiro momento esse fato poderia ajudar a padronizar essas preparações no mercado, no entanto, quando se observa as informações publicadas referentes à tintura de Calêndula, nota-se que a padronização descrita refere-se à produção por percolação e usando uma proporção de 1:10 ou 10%. Isso, a curto e médio prazo, poderia trazer maior diversidade de produtos ao mercado já que, na fitoterapia, tinturas a 20% (1:5) são aquelas normalmente utilizadas.

Com relação às análises relacionadas especificamente com os princípios

ativos das tinturas, o resultado comparativo dos certificados de análise é mais estarrecedor. Somente um dos oito certificados (12,5%) continha esse tipo de informação (Certificado I). Neste há especificação de análises qualitativas positivas para flavonoides, taninos, saponinas, resinas, óleos voláteis e alcaloides, embora Nunes *et al.* (2009) não tenham conseguido evidenciar a presença de saponinas na prospecção fitoquímica realizada com a tintura de Calêndula. Ainda foram pesquisados e evidenciados, por cromatografia em camada delgada, os ativos rutina e ácido clorogênico, conforme especificado na monografia dessa droga na Farmacopeia Brasileira 5ª. edição (2010). Há citação, nesse mesmo documento, de análise quantitativa feita sobre os óleos voláteis. No entanto, o marcador para *C. officinalis* não são os óleos voláteis, mais sim os flavonoides que devem ser doseados com técnica espectrofotométrica, conforme descrito na mesma monografia da Farmacopeia Brasileira 5ª. edição (2010). Finalmente, em relação às análises referentes à contaminação microbiológica da preparação, nenhum dos oito certificados de análise pesquisados (0,0%) apresentava esse tipo de determinação. Talvez seja porque se considere as tinturas isentas desse tipo de problema por serem obtidas utilizando solução hidroetanólica e, portanto, com alguma propriedade antisséptica, suficiente para inibir o crescimento de microrganismos. No entanto, configura-se grave erro de análise, pois insumos fitoterápicos com esse tipo de contaminação envolvem sérios riscos aos usuários já que pode compreender contaminação por agentes patogênicos, a produção de endotoxinas e micotoxinas e transformações dos princípios ativos em compostos tóxicos (GONÇALVES, 2009).

Ressaltamos ainda que, sete dos oito documentos analisados (87,5%), propõem valores ou faixas de normalidade para aprovarem seus produtos, no entanto, não as referenciam de modo claro. Nessa situação são indicados como fontes dessa informação o fabricante ou fornecedor (são utilizados exatamente esses termos, sem identificá-los), não sendo indicada a verdadeira referência que foi utilizada para propor esses valores ou faixas de aceitação para produto. Somente um dos certificados (I) indica referências que são relativas à Farmacopeia Brasileira 2ª. e 4ª. edição e Farmacopeia Francesa. É importante, no entanto, ressaltar que edições anteriores à 5ª. edição da Farmacopeia Brasileira (2010) foram revogadas por ocasião da publicação desta última edição.

Observamos grandes divergências nos prazos de validade apresentados pelas empresas. Há variação de 333%, pois algumas apresentam 1,5 anos (certificados II, IV e VIII) e outra apresenta período de 5 anos (certificado I). A maioria dos certificados (III, V, VI e VII) indica o período de 2 anos como prazo de validade para seu produto.

TABELA 1. RESULTADOS DAS AVALIAÇÕES DOS CERTIFICADOS DE ANÁLISE DE EMPRESAS QUE COMERCIALIZAM TINTURA DE *C. officinalis*

Critério/ Certificado	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
Identificação botânica	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>	<i>Calendula officinalis</i>
Farmacógeno	Sumidade florida	Flor						
Processo de Extração	Percolação	-	-	-	-	-	-	-
Validade	5 anos	1,5 anos	2 anos	1,5 anos	2 anos	2 anos	2 anos	1,5 anos
Cor	Verde-amarelo	Castanho	Característico	Castanho amarelo	Castanho escuro	Castanho escuro	Castanho escuro	Castanho amarelo
Odor	Nauseoso	Característico						
Sabor	Acre	Característico						
Proporção droga:solvente	20%	-	20%	-	20%	20%	20%	-
Teor alcoólico (v/v)	70%	66%	61%	66%	59%	61%	62%	66%
Densidade (g/ml)	0,9043	0,895	0,902	0,890	0,915	0,91	0,9	0,890
pH	5,23	5,6	5,0	5,6	5,72	5	5,1	5,32
Solub. Água	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Solub. Etanol	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel	Solúvel
Solub. Propilenoglicol	-	Solúvel	-	Solúvel	-	-	-	Solúvel
Resíduo seco	3,1%	2,4%	-	2,0%	-	-	-	1,3%
Análises qualitativas	Reações de caracterização / CCD	-	-	-	-	-	-	-
Análises quantitativas	Essências 0,98%	-	-	-	-	-	-	-
Análises microbiológicas	-	-	-	-	-	-	-	-
Armazenamento e cuidados	Citado	-	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado
Responsável técnico	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado	Citado

4. CONCLUSÕES

Na atual condição que se encontra o mercado de fitoterápicos no Brasil, na qual se insere legislações que tentam padronizar e melhorar a qualidade desses produtos notamos que ainda há grande espaço para evolução. Isso pode ser observado sobre vários aspectos, inclusive quando avaliamos criteriosamente os certificados de análise de insumos farmacêuticos fitoterápicos fornecidos por diversas empresas do setor. Para tinturas de Calêndula, apesar dos certificados terem padronização em relação à apresentação dos itens de análise, notamos que há deficiências sérias nas informações apresentadas. Observamos falta de transparência em relação à indicação da referência que determinou os limites de normalidade para cada item analisado. Certificados de análise omitem informações sobre o processo de extração, resíduo seco e proporção

utilizada entre droga vegetal e solvente. Quando dados de resíduo seco e prazos de validade são apresentados observamos grande diversidade de informações, dificultando a avaliação desses insumos. Notamos ainda que há ausência de informações em relação às análises qualitativas e quantitativas dos princípios ativos além das análises microbiológicas. Essa condição pode refletir diretamente na eficácia e segurança de uso de medicamentos preparados com esse insumo, já que se pressupõe que tais análises não foram realizadas pelo fornecedor ou fabricante. Sendo assim, devemos avaliar com cuidado e restrições as informações contidas nesses documentos e, se necessário, desenvolver análises complementares para a certificação da qualidade do produto adquirido ou devolvê-lo ao fornecedor, requisitando certificados de análises mais completos e conclusivos.

5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Ministério da Saúde pelo apoio financeiro que nos foi concedido.

6. REFERÊNCIAS

BONFILIO, R.; EMERICK, G.L.; NETTO JR., A.; SALGADO, H.R.N. Farmácia magistral: sua importância e seu perfil de qualidade. **Revista Baiana de Saúde Pública**. V.34(3), 653-664, 2010.

BORELLA J.C.; RIBEIRO N.S.; TEIXEIRA, J.C.L.; CARVALHO, D.M.A. Avaliação da espalhabilidade e do teor de flavonoides em forma farmacêutica semissólida contendo extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. V. 31(2), 193-197, 2010.

BORELLA J.C.; CARVALHO, D.M.A. Avaliação comparativa da qualidade de extratos de *Calendula officinalis* L. (Asteraceae) comercializados em farmácias de manipulação em Ribeirão Preto – SP. **Revista Brasileira de Farmácia**. V. 92(2): 11-16, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). RDC 14/2010 de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União, Brasília DF. 2010.

CALIXTO, J.B.; SIQUEIRA, J.M. Desenvolvimento de medicamentos no Brasil: desafios. **Gazeta Médica da Bahia**. V.78(1), 98-106, 2008.

CARVALHO, A.C.B.; BRANCO, P.F.; FERNANDES, L.A.; MARQUES, R.F.O.; CUNHA, S.C.; PERFEITO, J.P.S. Regulação brasileira em plantas medicinais e fitoterápicos. **Revista Fitos**. V.7(1), 5-16, 2012.

CITADINI-ZANETTE, V.; NEGRELLE, R.R.B.; BORBA, E.T. *Calendula officinalis* L. (Asteraceae): aspectos botânicos, ecológicos e usos. **Visão Acadêmica**. V.13(1), 6-23, 2012.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª ed. Volume 1 e 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2010. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm> Acesso em 22 mai 2013.

FORMULÁRIO DE FITOTERÁPICOS DA FARMACOPEIA BRASILEIRA. 1ª ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/farmacopeiabrasileira/conteudo/Formulario_de_Fitoterapicos_da_Farmacopeia_Brasileira.pdf> Acesso em 22 mai 2013.

GONÇALVES, M. L. Q. **Boas práticas para medicamentos fitoterápicos em escala magistral no setor público**. Dissertação (mestrado profissional). Porto Alegre. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas UFRGS. 154p. 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(3): 241-248. 2009.

LEACH M.J. *Calendula officinalis* and wound healing: a systematic review. **Wounds**. V.20(8): 1-7, 2008.

MARQUES, L.C. Preparação de extratos vegetais. **Jornal Brasileiro de Fitomedicina**. V.2: 74-76, 2005.

NUNES, K.M.; BARBOSA W.L.R.; OZELAE.F.; SILVA JÚNIOR J.O.C. Padronização da tintura de *Calendula officinalis* L. para seu emprego em formulações semi-sólidas fitoterápicas. **Lat. Am. J. Pharm.** V.28(3): 344-350, 2009.

OLIVEIRA, A.H.; BERRETTA, A. Avaliação da qualidade de insumos farmacêuticos a base de calêndula e própolis utilizados pelas farmácias magistrais. **Revista Eletrônica de Farmácia**. V. 4(2): 169-174, 2007.

SONAGLIO, D.; ORTEGA, G.G.; PETROVIK, P.R.; BASSANI, V.L.. Desenvolvimento tecnológico e produção de fitoterápicos. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. (Orgs.). 6ª. ed. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, 2007. p.289-326.