

Determinação do teor de metilxantinas em amostras de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) em pó comercializadas em farmácias de Feira de Santana, Bahia

Jonaldo André da Costa, Monick Oliveira Ribeiro, Ivonildo Almeida dos Santos, Raquel Bianca Marchesine de Almeida, Amanda dos Santos Teles

Graduandos em Ciências Farmacêuticas, Departamento de Saúde - UEFS

jonaldoandre@yahoo.com.br, monick_ribeiro@hotmail.com, murillo_jamais@hotmail.com,

raquel_bma@hotmail.com, amandateles_@hotmail.com

Hugo Neves Brandão

Professor do Departamento de Saúde-UEFS

44036-900- Feira de Santana, BA

hugo@uefs.br

Resumo

O guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) é uma espécie nativa da região amazônica do Brasil, que apresenta atividade farmacológica estimulante do sistema nervoso central. Tal fato é atribuído à presença dos metabólitos secundários conhecidos como metilxantinas (cafeína, teofilina e teobromina) encontrados nas sementes. Devido ao grande consumo e comercialização de suplementos alimentares à base de sementes de guaraná, este trabalho tem por objetivo determinar o teor de metilxantinas em amostras comerciais de pó de sementes de *Paullinia cupana* Kunth. O teor de metilxantinas foi determinado por espectrofotometria ($\lambda = 271$ nm), como preconizada pela Farmacopéia Brasileira 4ª edição que estabelece como parâmetro o teor mínimo de 5% de metilxantinas. Duas das três amostras analisadas apresentaram metilxantinas em níveis inferiores ao preconizado pela Farmacopéia.

Palavras-chave: metilxantinas, *Paullinia cupana* Kunth, espectrofotometria

Abstract

Guarana (*Paullinia cupana* Kunth) is a species native to the Amazon region of Brazil, which has pharmacological activity stimulant of central nervous system. This is attributed to the presence of secondary metabolites known as methylxanthines (caffeine, theophylline and theobromine) found in the seeds. Due to the large consumption and marketing of food supplements based on guarana seeds, this study aims to determine the levels of methylxanthines in commercial samples of powdered seeds of *Paullinia cupana* Kunth. The methylxanthines content was determined by spectrophotometry ($\lambda = 271$ nm), as recommended in the Brazilian Pharmacopoeia 4th edition and establishes a minimum content of 5% of methylxanthines. Two of three samples analysed showed lower levels of methylxanthines that recommended by the Pharmacopoeia.

Keywords: [methylxanthines](#), *Paullinia cupana* Kunth, spectrophotometry

Introdução

Desde tempos imemoriais o homem faz uso de vegetais como recurso terapêutico. Provavelmente na pré-história os homens primitivos, de maneira empírica, foram observando os efeitos de determinadas plantas no organismo humano, sendo esse conhecimento passado de geração para geração até os tempos atuais. A fitoterapia tem por base a utilização de plantas medicinais, estas podem ser definidas como aquelas capazes de produzir princípios ativos que alteram o funcionamento de órgãos e sistemas restaurando o equilíbrio orgânico ou homeostasia nos casos de enfermidades (FERRO, 2008).

Muitas espécies vegetais são utilizadas terapeuticamente devido à atividade estimulante do sistema nervoso central (SNC), no Brasil, o guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) é uma das mais utilizadas. Os indígenas da região amazônica utilizam as sementes secas e tostadas como estimulante, adstringente e no tratamento de diarreias. Estudos científicos com o guaraná foram iniciados por volta de 1940 por pesquisadores franceses e alemães, cujos achados confirmaram as indicações preconizadas pelos indígenas (LORENZI; MATOS, 2002).

Os constituintes químicos presentes no guaraná responsáveis pela atividade estimulante do SNC são as metilxantinas (figura 1), em especial a cafeína, presente em maior quantidade na composição química em relação a teofilina e teobromina. As metilxantinas provocam aumento da liberação de catecolaminas, facilitam a atividade cortical, inibem o sono e diminuem a sensação de fadiga. O guaraná é contra-indicado em estados de ansiedade, hipertensão, arritmias e inflamações gastrintestinais (RATES, 2000; LORENZI; MATOS, 2002; CUNHA; SILVA; ROQUE, 2003; CARLINI, 2003; KUSKOSKI *et al.*, 2005).

A concentração de princípios ativos e, conseqüentemente, a eficácia das plantas medicinais dependem do controle genético e de fatores externos como a temperatura, umidade, luminosidade, método de coleta, entre outros (CALIXTO, 2001; GOBBO NETO; LOPES, 2007).

Tendo em vista a importância do teor de metilxantinas para a ação terapêutica do guaraná, este trabalho tem por objetivo determinar o teor destas substâncias em amostras comerciais de pó de sementes de guaraná (*Paullinia cupana* Kunth) disponíveis em farmácias do município de Feira de Santana, Bahia e verificar a conformidade com o preconizado pela Farmacopéia Brasileira 4^a. ed.

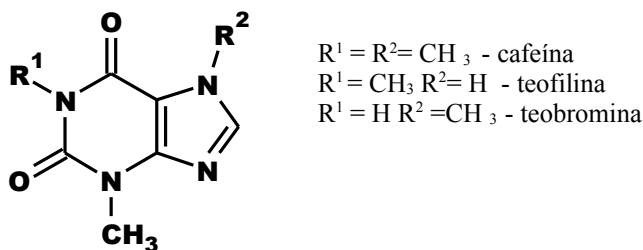


Figura 1: Esqueleto básico das metilxantinas

Materiais e Métodos

Realizou-se busca em vinte farmácias na cidade de Feira de Santana-Ba, sendo identificadas três marcas diferentes de amostras de guaraná em pó. Foram adquiridas um total de três amostras, sendo uma amostra de cada marca em três diferentes farmácias.

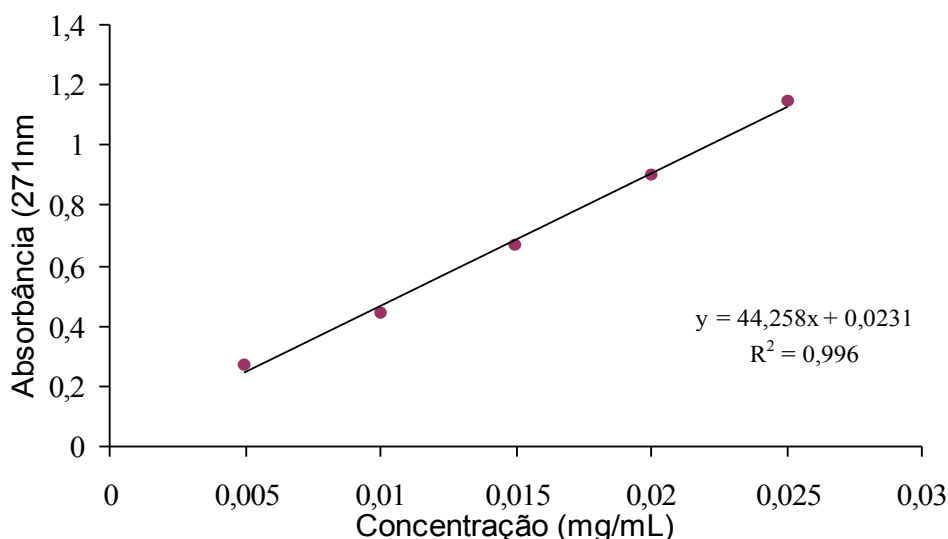
Utilizou-se a espectrofotometria na região do ultravioleta para determinação do teor de metilxantinas, visto que o método espectrofotométrico apresenta um bom desempenho na quantificação de metilxantinas totais em guaraná (DE MARIA; MOREIRA, 2007; PELOZO; CARDOSO; MELLO, 2008). No entanto, vale ressaltar que tal método é incapaz de distinguir os teores de cada uma das três metilxantinas (DE MARIA; MOREIRA, 2007). Foi utilizada metodologia descrita na Farmacopeia

Brasileira 4ª edição, sendo utilizada fórmula para cálculo do teor de metilxantinas descrita por Sousa (2009).

Inicialmente foi construída a curva de calibração com padrão de cafeína e em seguida realizaram-se as medidas de absorvância das soluções obtidas a partir das amostras de guaraná em pó.

Curva de calibração de cafeína

A curva de calibração de cafeína (figura 2) construída a partir da dissolução de 25 mg do padrão de cafeína em 50 mL de solução de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) para a obtenção da solução mãe de cafeína a 0,05% (p/v). Posteriormente, foram preparadas soluções de referência a partir da transferência de alíquotas de 0,5 mL; 1 mL; 1,5 mL; 2 mL e 2,5 mL da solução mãe, separadamente para balões volumétricos de 50 mL, completando o volume com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) de forma a obter soluções a 0,005 mg/mL; 0,01 mg/mL; 0,015 mg/mL; 0,02 mg/mL e 0,025 mg/mL, respectivamente. As absorvâncias das soluções foram medidas no espectrofotômetro em 271nm, utilizando ácido sulfúrico a 2,5% (v/v) como branco. O coeficiente de correlação linear (R^2) está dentro do preconizado pela RE 899/2003 que preconiza coeficiente igual ou superior a 0,98.



Figura

2. Curva de calibração de cafeína obtida por espectrofotometria a 271 nm utilizando concentrações de 0,005 a 0,025 mg/mL.

Determinação do teor de metilxantinas nas amostras

Pesou-se 0,125g das amostras A, B e C. Em seguida, as metilxantinas foram extraídas com porções de 10 mL de ácido sulfúrico a 2,5% (v/v), com agitação mecânica por 15 minutos por quatro vezes. As porções foram filtradas, transferidas para 3 balões volumétricos de 50mL, um referente a cada amostra de guaraná em pó, e os volumes completados com o mesmo solvente.

Em seguida, uma alíquota de 5 mL de cada solução foi transferida para balões volumétricos de 50 mL e seus volumes foram completados com ácido sulfúrico a 2,5% (v/v). Após esta etapa, a absorvância de cada uma das amostras foi medida em triplicata sendo considerada a média aritmética das três medidas.

Cálculo do teor de metilxantinas:

Teor de metilxantinas (%) = $X \text{ (mg/ml)} \times \text{Fator de diluição} \times 50 / \text{massa da amostra (mg)}$

X= concentração da amostra de acordo com a curva de calibração

Resultados e discussão

Os teores de metilxantinas, calculados como cafeína, para as amostras A, B e C, são apresentados na tabela 1. Observou-se que 2 das 3 amostras analisadas apresentaram teor de metilxantinas abaixo do mínimo de 5% preconizado Farmacopeia Brasileira 4ª edição.

Tabela 1. Teor de metilxantinas nas amostras analisadas e conformidade com o preconizado pela Farmacopéia Brasileira 4. ed.

Amostra	A	B	C
Teor de Metilxantinas	5,04%	4,35	4,52
Situação	Conforme	Não conforme	Não conforme

Outros estudos realizados no Brasil também mostram inconformidade no teor de metilxantinas em amostras de guaraná em pó. Tfouni *et al* (2007), analisaram o teor de cafeína em amostras de guaraná em pó adquiridas nas cidades de Ribeirão Preto e Campinas no estado de São Paulo, sendo encontrado nas amostras teor de cafeína entre 0,95 e 3,7%, o que representa grande variabilidade, além de também estarem abaixo dos 5% preconizados pela Farmacopeia.

Bara *et al* (2006), estudaram o teor de metilxantinas em amostras de guaraná em pó adquiridas de vários fornecedores e encontrou 60% das amostras com teor abaixo do preconizado pela Farmacopeia Brasileira 4ª ed. Foi observado no mesmo estudo que todos os laudos dos fornecedores utilizavam as especificações baseadas na 3ª edição da Farmacopeia Brasileira (1977), que preconiza o método gravimétrico e o limite para estes princípios ativos é de 3,5 %.

Avaliando a qualidade de amostras de guaraná em pó comercializadas em Anápolis-GO, Barbosa *et al* (2008) encontraram quantidade média de 1,5% de metilxantinas, enquanto deveriam apresentar mínimo de 5%.

Na cidade de Maringá-PR, Tobias *et al* (2007), desenvolveram um estudo de controle de qualidade de drogas vegetais comercializadas em farmácias de manipulação. Foram analisadas 4 amostras de guaraná, sendo que os resultados obtidos estão de acordo com os valores recomendados na literatura.

Vários fatores podem influenciar na concentração das metilxantinas no guaraná como a procedência da matéria-prima (região de plantio), o método de cultivo, presença de contaminantes e métodos de secagem (ASHIHARA; CROZIER, 2001 *apud* TFOUNI *et al*, 2007).

Em estudo realizado por Ushirobira *et al* (2004), foi analisado o teor de metilxantinas em amostras de sementes de guaraná oriundas da região de Alta Floresta – MT e Maués - AM, sendo observados teores de 6,07 e 7,78%, respectivamente.

Spoladore, Boaventura e Saes (1987) realizaram estudo do teor de cafeína no tegumento e amêndoa de sementes de plantas matrizes de guaraná existentes no Instituto Agrônomo, no Vale do Ribeira - SP. Os teores de cafeína apresentaram valores médios de $2,33 \pm 0,38\%$ na amêndoa, de $1,09 \pm 0,29$ no tegumento e de $2,15 \pm 0,34\%$ na semente como um todo.

Existem registros no site da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) de ordens de apreensão, suspensão de fabricação, comercialização e distribuição de produtos a base de guaraná. No Brasil existem normas que estabelecem critérios de qualidade para o produto guaraná em pó, representados pela Resolução (CNNPA) nº 12 de 1978 e a portaria do Ministério da Agricultura nº

70 de março de 1982. Outra norma, a RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005 da ANVISA traz recomendações referentes à rotulagem, mas esta não faz referência aos parâmetros de qualidade e teores de princípios ativo no guaraná.

Diante dos registros de irregularidades dos produtos a base de guaraná comercializados no Brasil, observa-se que há necessidade de atualização dos parâmetros de qualidade desse produto junto às agencias reguladoras e aumento no rigor da fiscalização e controle de qualidade de produtos a base de guaraná.

Considerações Finais

O número limitado de amostras analisadas não permite fazer generalizações a respeito da qualidade do guaraná em pó comercializado nas farmácias de Feira de Santana-BA, uma vez que, deve ser considerada a possibilidade de erro analítico e heterogeneidade em um mesmo lote sendo que ao acaso uma amostra não conforme tenha sido selecionada. Entretanto a não conformidade com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira 4ª ed. em relação ao teor de metilxantinas é apontada também por outros estudos realizados no Brasil.

Nenhuma das amostras analisadas apresentava nas embalagens o teor de metilxantinas podendo esse fato ser considerado uma falha no ciclo de produção/comercialização deixando o consumidor do produto sem uma informação relacionada diretamente a eficácia terapêutica.

Observa-se, também, que a legislação referente aos parâmetros de qualidade do produto guaraná em pó está desatualizada. Os resultados apresentados neste estudo apontam para a necessidade de atualização das normas referentes às especificações de qualidade, aperfeiçoamento e aumento no rigor do controle de qualidade no cultivo, beneficiamento e produto acabado a base de guaraná, de maneira a garantir a segurança de uso e eficácia terapêutica.

Referências

- [1] ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Acesso em dezembro de 2010, disponível em: http://portal2.saude.gov.br/saudelegis/leg_norma_pesq_consulta.cfm.
- [2] ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RDC nº 272, de 22 de setembro de 2005, Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Regulamento Técnico para produtos de vegetais, produtos de frutas e cogumelos comestíveis. Disponível em: http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/bra168a1_t.pdf
- [3] ANVISA, Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos, Resolução - CNNPA nº 12, de 1978, disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_78_guarana.htm.
- [4] ASHIHARA H, CROZIER A. Caffeine: a well known but little mentioned compound in plant science. **Trends. Plant. Sci.** v.6 n.9 (2001) p. 407-413. *apud* TFOUNI, Sílvia Amélia Verdiani *et al.* Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. **Rev. Nutr.** v. 20, n.1,(2007) p. 63-68.
- [5] BARA, M. T. F. *et al.* Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. **Rev. bras. Farmacogn.** , v.16, n.2 (2006), p. 211-215.
- [6] BARBOSA, C.F. *et al.* Avaliação da qualidade do pó de guaraná comercializado na cidade de Anápolis – GO. **48º Congresso Brasileiro de Química**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Química, 2008. Disponível em: <http://www.abq.org.br/cbq/2008/trabalhos/13/13-161-1121.htm>
- [7] BRASIL, **Farmacopeia Brasileira**. 4. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2004 parte II, quinto fascículo.
- [8] BRASIL, **Farmacopeia Brasileira**. 3. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1977.
- [9] BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, portaria do Ministério da Agricultura nº 70 de março de 1982, **Normas de identidade, qualidade, embalagem, armazenamento e transporte do guaraná em grão, bastão ou pó**. disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/sislegis/acao/detalhaAto.do> method=detalharAtoArvore&tipo=POR&numeroAto=00000070&seqAto=000&valorAno=1982&orgao=MAPA&codTipo=&desItem=&desItemFim=#

- [10] BRASIL. RE. 899, 29 de maio de 2003, “**Guia para validação de métodos analíticos**”.
- [11] CALIXTO, J. B. Medicamentos Fitoterápicos. In: YUNES, R. A. e CALIXTO, J. B. **Plantas Medicinais: sob a ótica da Química Medicinal Moderna**. 1ª ed. Santa Catarina: Editora Universitária, 2001, capítulo 7, p. 298-312.
- [12] CARLINI, E. A. Plants and the central nervous system, **Pharmacology, Biochemistry and Behavior**, v. 75 (2003), p. 501-512.
- [13] CUNHA, A. P. ; SILVA, A. P.. ROQUE, O. R. **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2006.
- [14] DE MARIA, C. A. B. ; MOREIRA, R. F. A. Cafeína: revisão sobre métodos de análise, **Quím. Nova**, v. 30, n. 1, p. 99-105, 2007.
- [15] FERRO, D. **Fitoterapia: conceitos clínicos**. São Paulo: Atheneu, 2008.
- [16] GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Quím. Nova**, 30, n.2, p. 374-381, 2007
- [17] KUSKOSKI, E. M, *et al.* Propiedades Químicas y Farmacológicas del fruto guaraná (*Paullinia cupana*). **Vitae**. (2005), v.12, n.2, p. 45-52.
- [18] LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Plantarum, 2002
- [19] PELOZO, M. I. G.; CARDOSO, M. L. C. ; MELLO, J. C. P. Spectrophotometric determination of tannins and caffeine in preparations from *Paullinia cupana* var. *sorbilis*. **Braz. arch. biol. Technol.** v.51, n.3, p. 447-451, 2008.
- [20] RATES, S. M. K. Metilxantinas in: SIMÕES, C. M. O. et al (org), **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2. ed. ver. Porto Alegre: Florianópolis: Ed. da UFRGS, Ed. da UFSC, 2000.
- [21] SOUSA, S. S. **Desenvolvimento e validação de método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência e ensaio de dissolução para avaliação da qualidade de fitoterápicos contendo *Paullinia cupana* Kunth**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás, 2009.
- [22] SPOLADORE, D. S. ; BOAVENTURA, M. A. M. ; SAES, L. A. Teor de cafeína em sementes matrizes do guaranazeiro. **Bragantia**. (1987), v.46, n.2, p. 425-429, 1987.
- [23] TFOUNI, S. A. V. *et al.* Contribuição do guaraná em pó (*Paullinia cupana*) como fonte de cafeína na dieta. **Rev. Nutr.** v.20, n.1, p. 63-68, 2007.
- [24] TOBIAS, M. L. *et al.* Controle de qualidade de drogas vegetais de farmácias de manipulação de Maringá (Paraná-Brasil), **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 1, p. 95-103, 2007.
- [25] USHIROBIRA, T. M. A. *et al* Controle de Qualidade de Amostras de *Paullinia cupana* H.B.K. var. *sorbilis* (Mart.) Ducke **Acta Farm. Bonaerense**, v. 23, n. 3, p. 383-386, 2004.