

CARACTERIZAÇÃO CROMATOGRÁFICA EM CAMADA DELGADA DO EXTRATO FLUÍDO DE GUACO - MIKANIA GLOMERATA SPRENGEL#

Thin layer chromatographyc characterization of fluid extract of guaco - Mikania glomerata Sprengel

Fernando de Oliveira*, Maria Lúcia Saito**, Lucas de Oliveira Garcia***

As frações hexânicas, clorofórmicas, em acetato de etila e etanólica do extrato fluido de guaco - **Mikania glomerata** foram analisadas por cromatografia em camada delgada frente a padrões de ácido caurenóico, ácido cinamoilgrandiflórico, estigmasterol e cumarina visando o estabelecimento de perfil cromatográfico que permita identificar este insumo farmacêutico.

UNITERMS: **Mikania glomerata** Sprengel, Extrato fluido, Cromatografia em Camada Delgada

INTRODUÇÃO

Mikania glomerata Sprengel, o guaco oficial brasileiro,¹ entre as espécies pertencentes à seção **Globosae** Robinson do gênero **Mikania** Willdenow é a mais estudada.

Lucas² em 1942 elaborou trabalho no qual fez a análise qualitativa do vegetal evidenciando, ao lado de diversas frações da planta, a presença de cumarina. No trabalho discute a elaboração de formas farmacêuticas simples, tais como: hidrolato, alcoolatura, tintura extrato fluido e pó. Com referência à atividade medicinal, baseando-se na literatura que trata do uso popular da espécie, atribui-lhe propriedades anti-reumática, diaforética, antiespasmódica, antiinflamatória e, sobretudo, balsâmica das vias respiratórias, béquica e expectorante.

Trabalho financiado pela FAPESP e Universidade São Francisco

*Universidade São Francisco - Câmpus Bragança Paulista; **EMBRAPA CNPDA - Jaguariuna - SP, ***Bolsista da FAPESP

Oliveira⁴ em 1983 isolou do vegetal, ácido caurenóico, ácido cinamoilgrandiflorico, estigmasterol e cumarina. Este autor verificou ainda, a propriedade antiinflamatória do extrato fluido preparado com as partes aéreas da planta, bem como sua baixa toxicidade aguda em ratos.

Moura et al.³ por sua vez, puseram em evidência a atividade dilatadora do extrato da planta sobre traquéia isolada de cobaia.

O extrato fluido do guaco possui odor aromático agradável, lembrando de certa forma, o cheiro de baunilha, podendo ser empregado como corretivo de sabor e de odor.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

O material vegetal destinado à elaboração dos extratos fluidos foram coletados mensalmente, no período de tempo compreendido entre 18/03/91 a 13/12/91 num total de 12 (doze) amostras. A seguir, as drogas obtidas por secagem à temperatura controlada e sem circulação de ar, foram submetidas, separadamente, à moagem de forma a se obter pó semifino.¹ Com estes insumos foram preparadas 12 amostras de extrato fluido segundo a Farmacopéia Brasileira,¹ processo A.

2.1 - Caracterização cromatográfica em camada delgada do extrato fluido

Cada uma das doze amostras de extrato fluido foi submetida ao seguinte tratamento:

- 20ml do extrato fluido foram colocados em funil de separação e submetidos à agitação com 20ml de hexano. Após a agitação e repouso, separou-se a fase etérea. Repetiu-se a operação com 20 ml de hexano por duas vezes. As frações etéreas foram reunidas e concentradas até volume de 5ml. Obteve-se, assim, a fração hexânica do extrato fluido.

As frações clorofórmicas e em acetato de etila foram preparadas de forma semelhante.

A fração etanólica foi obtida da seguinte maneira:

- 20ml de extrato fluido foram evaporados até a obtenção de extrato mole à temperatura de 50°C em cápsula de porcelana. O resíduo obtido foi tratado por 20ml de etanol à temperatura de 50°C em manta aquecedora promovendo-se a agitação da mistura por bastão de vidro. A mistura foi filtrada e o extrato etanólico concentrado até 1ml (fração etanólica).

As frações hexânica, clorofórmica, em acetato de etila e etanólica, foram submetidas à análise cromatográfica em camada delgada. Diversos sistemas cromatográficos foram empregados, os quais constam das tabelas referentes aos resultados.

2.2 - Parâmetros físicos e químicos

Foram determinados os pH, as densidades e o resíduo seco¹ de cada um dos extratos fluidos. A densidade foi determinada pelo método do picnômetro. Todos os ensaios foram executados em triplicata e o resultado expresso pelo valor médio

3 - RESULTADOS

Os resultados obtidos na análise cromatográfica do extrato fluido de guaco, acham-se reunidos nas 7 tabelas seguintes. Foram empregados como padrões cromatográficos o ácido caurenóico, o ácido cinamoilgrandiflórico, o estigmasterol e a cumarina, substâncias estas cuja presença fora constatada na planta anteriormente.

A tabela 8 reúne dados referentes a parâmetros físicos e químicos das 12 amostras de extrato fluido. Assim, foram determinados o pH, a densidade e o resíduo seco de cada uma das amostras.

3.1 - Análise cromatográfica

Tabela 1 - Cromatografia em camada delgada do extrato fluido de guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) - fração hexânica. Tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase móvel: benzeno: acetato de etila (19:1); revelador: anisaldeído, seguido de aquecimento 105°C / 10 min; visualização: luz normal; percurso: 10 cm; desenvolvimento: Duplo.

Table 1 - Thin layer chromatography of fluid extract of guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) - hexanic fraction.

Cor da mancha	Forma	HRf	Intensidade das manchas nos diversos meses												E	ACG	AC
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92			
roxo escura	arredondada	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
cinza	achatada	13	++	++	++	+	++	++	+	+	++	++	++	++			
azul	achatada	18	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	++			
roxa	achatada	20	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
azul	arredondada	25	++	++	+++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	ogival	35	++	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++		
rosa	ogival	40	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++		
amarelo-cinza	arredondada	48	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+++	+++			
rosa	achatada	62	++	+	+	+	++	++	++	++	++	+	+	+			
azul-cinza	arredondada	64	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
azul-cinza	arredondada	70	++	++	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++			
azul	sagitada	80	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+			
violeta	arredondada	89	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			

+ pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa; E - estigmasterol; AC - ácido caurenóico; ACG - ácido cinamoilgrandiflórico.

Tabela 2 - Cromatografia em camada delgada do extrato fluido de guaco (Mikania glomerata Sprengel) - fração hexânica.
Tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase móvel: heptano: acetona (10:3) revelador: sulfavanílico; desenvolvimento: triplo; visualização: luz normal.

Table 2 - Thin layer chromatography of fluid extract of guaco (Mikania glomerata Sprengel) - hexania fraction

Cor da mancha	Forma	HRf	Intensidade das manchas nos diversos meses											
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92 E AC ACG
azul-arroxead	arredondada	17	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa-arroxead	achatada	23	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa	arredondada	30	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa	arredondada	35	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
cinza-rosada	arredondada	40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
rosa	ogival	47	++	++	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++
azul-rosado	arredondada	53	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
marrom	arredondada	58	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa-rosada	ogival	67	++	++	+	+	+	+	++	++	+	+	+	++
rosa	arredondada	72	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
rosa	arredondada	94	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

* pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa; E - estigmasterol; AC - ácido caurenóico; ACG - ácido cinamomilgrandiflorico.

Tabela 3 - Cromatografia de camada delgada do extrato fluido de guaco (Mikania glomerata Sprengel) - fração clorofór- mica. Tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase móvel: heptano: acetona (10:3); revelador: anisaldeído se- guido de aquecimento 105°C / 10 min; observação: luz natural; desenvolvimento: triplo.

table 3 - Thin layer chromatography of fluid extract of guaco (Mikania glomerata Sprengel) - chloroformic fraction.

Cor da mancha	Forma	Hrf	Intensidade das manchas nos diversos meses												E	AC	ACG
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92			
roxo-azulada	arredondada	27	++	+	+	++	++	++	++	+	++	++	++	++			
roxo-azulada	arredondada	31	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
cinza	achatada	38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
rosa	arredondada	46	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
cinza	arredondada	48	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
amarela	arredondada	51	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+			
azul-rosada	ogival	55	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	ogival	71	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
roxa	arredondada	80	++	+	+	++	++	++	+	+	+	+	++	++			++
azul	arredondada	93	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			

* pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa; E - estigmasterol; AC - ácido caurenóico; ACG - ácido cinamo-grandiflorico.

Tabela 4 - Cromatografia da camada delgada do extrato fluido de guaco (Mikania glomerata Sprengel) - fração acetato de etila - Tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase: estacionária; fase móvel: heptano : acetona (10:3); revelador: sulfavanílico; observação: luz natural; desenvolvimento: triplo.

Table 4 - Thin layer chromatography of fluid extract of guaco (Mikania glomerata Sprengel) - ethyl acetate fraction.

Cor da mancha	Forma	HRF	Intensidade das manchas nos diversos meses												E	A	C	ACG
			7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
roxa	circular	7	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
cinza	circular	11	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
violeta	circular	13	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
azul	circular	16	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
violeta	circular	21	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
rosa	achatada	27	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
rosa	achatada	32	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
cinza	achatada	38	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
rosa-azulada	ogival	42	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa-azulada	achatada	50	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa	achatada	54	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
azul	circular	56	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
rosa	ogival	60	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++

+ pouco intensa; ++ medianamente intensa; *** bastante intensa; E - estigmaterol; AC - ácido caurenóico;
ACG - ácido cinamoilgrandiflorico.

Tabela 5 - Cromatografia de camada delgada do extrato fluido de quaco (Mikania glomerata Sprengel) - fração acetato de etila. Fase: estacionária; tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase móvel: heptano : acetona (10:3) ; revelador: anisaldeído seguido de aquecimento 105°C / 10 min; observação: luz natural; desenvolvimento : triplo.

Table 5 - Thin layer chromatography of fluid extract of quaco (Mikania glomerata Sprengel) - ethyl acetate fraction.

Cor da mancha	Forma	HRf	Intensidade das manchas nos diversos meses												E	AC	ACG
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92			
pardo-escuro	achatada	3	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
violeta	achatada	28	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
rosa	ogival	30	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
cinza	achatada	36	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	ogival	42	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	++			
cinza	achatada	46	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
amarelo	arredondada	48	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	ogival	53	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++
violeta	arredondada	65	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++
rosada	ogival	70	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++

+ pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa; E - estigmasterol; AC - ácido caurenóico; ACG - ácido cinamoilgrandiflorico.

Tabela 6 - Cromatografia de camada delgada do extrato fluido do guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) - fração acetato de etila. Tipo de adsorvente: sílica gel G60; fase móvel: heptano : acetona (10:3); revelador: solução de hidróxido de sódio a 5%; visualização: luz U.V. 365 nm; desenvolvimento: triplo.

Table 6 - Thin layer chromatography of fluid extract of guaco (*Mikania glomerata* Sprengel) - ethyl acetato fraction.

Cor da mancha	Forma	HRf	Intensidade das manchas nos diversos meses											
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92
castanha	circular	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
amarelo-esverdeada	circular	13	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
azul-anil	circular	23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
amarelo-esverdeada	circular	55	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
cumarina (padrão)														
amarelo-esverdeada	circular	55												

+ pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa;

Obs.: no sistema cromatográfico acima as frações hexânicas, clorofórmicas, em acetato de etila e fração metanólica

 apresentam características semelhantes. Fato similar ocorre com o extrato fluido total visto o revelador em-
 pregado ser seletivo.

Table 7 - Cromatografia em camada delgada de extrato fluido de mentrasto (*Ageratum Conyzoides* L.) - fração cloro-
fórmica. Tipo de adsorvente: sílica gel G60; tamanho da placa: 20x20 cm; natureza do suporte: vidro; ati-
vação da placa: 110°C / 30 min; espessura da camada: 0,5 mm; cuba: tamanho 25x25x10 cm; saturação: total;
desenvolvimento: sentido: ascendente; percurso: 10 cm; fase móvel: acetato de etila (7:3); revelador: sul-
favanílico; observação: luz natural.

Table 7 - Thin layer chromatography of fluid extract of mentrasto (*Ageratum Conyzoides*) - chloroform8c fraction.

Cor da mancha	Forma	HRF	Intensidade das manchas nos diversos meses												E	AC	ACG
			3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1/92	2/92			
cinza	circular	5	++	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+	+			
violeta	arredondada	20	+	+	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+			
violeta	circular	27	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			
rosa	circular	35	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
rosa-azulada	circular	40	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	achatada	47	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
rosa	achatada	51	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++			
amarela	achatada	53	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++			
rosa	achatada	56	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+	++	++			
rosa	ogival	57	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++
rosa	circular	71	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++
rosa	ogival	75	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			++
azul	achatada	80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+

+ pouco intensa; ++ medianamente intensa; +++ bastante intensa; E - estigmasterol; AC - ácido caurenóico;

ACG - ácido cinamoilgrandiflorico.

3.2 - Parâmetros físicos e químicos dos extratos fluidos

Tabela 8 - Extrato fluido de guaco - determinação do pH densidade e resíduo seco.

Table 8 - Fluid extract of guaco - determination of pH density and dry residue

Mês da coleta do vegetal	pH	densidade	Resíduo seco %
03/91	5,45	0,44074	17,78
04/91	5,47	0,42978	16,32
05/91	5,48	0,42820	16,21
06/91	5,42	0,43330	16,52
07/91	5,27	0,43214	16,50
08/91	5,28	0,44085	17,80
09/91	5,24	0,44154	17,95
10/91	5,43	0,43464	16,70
11/91	5,32	0,43526	16,86
12/91	5,45	0,43488	16,79
01/92	5,37	0,43507	16,80
02/92	5,44	0,43892	17,02

4 - DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A análise cromatográfica dos extratos fluidos de guaco (**Mikania glomerata** Sprengel) foi efetuada através da observação de suas frações hexânica clorofórmica de acetato de etila e etanólica. Como fase estacionária em todos os casos empregou-se sílica gel G60. Duas fases móveis foram utilizadas, a saber:

- heptano: acetona (10:3) e benzeno: acetato de etila (19:1).

Essas cromatografias foram reveladas e observadas da seguinte forma:

- com revelador anisaldeído seguido de aquecimento 105°C por 10min e observação à luz natural;
- com revelador sulfovanílico e observação à luz natural;

- revelador hidróxido de sódio a 5% e observação à luz U.V. 365nm.

A revelação com hidróxido de sódio a 5% e posterior observação à luz U.V. 365nm teve como objetivo a verificação da presença de cumarina.

Com isso chegou-se a um perfil cromatográfico que permite a identificação do extrato fluido e, por extensão, a droga correspondente.

A observação das sete tabelas, referentes aos resultados da análise cromatográfica, permite constatar a presença de pelo menos treze substâncias diferentes integrando o extrato fluido. Entre estas substâncias figuram o ácido caurenóico, o ácido cinamoilgrandiflorico, o estigmasterol e a cumarina.

O sistema cromatográfico que menor número de substâncias permitiu visualizar foi o descrito na tabela 6. Nele empregou-se como revelador a solução de hidróxido de sódio a 5% seguido de visualização à luz U.V. de 365nm. Embora neste sistema cromatográfico apenas quatro substâncias possam ser visualizadas, ele é bastante característico na identificação do extrato fluido de guaco tendo, portanto, significado relevante neste mister.

As quatro frações do extrato fluido de guaco demonstraram importância na identificação do extrato. Cada uma delas permitiu o estabelecimento de um perfil cromatográfico no qual a seqüência da coloração e forma das manchas ao lado da identificação de algumas destas manchas por comparação com padrões cromatográficos, permitem a identificação do extrato.

O ácido caurenóico não aparece como mancha extinção da camada fluorescente quando observado à luz ultravioleta. Revelado com reativo sulfovanílico, inicialmente exibe coloração amarela, a qual passa à coloração violeta, roxa, rósea e, finalmente, branco leitosa após 24 horas.

A análise cromatográfica permitiu evidenciar a presença de inúmeras substâncias existentes no extrato fluido que mereciam ser identificadas em função da quantidade na qual ocorrem.

Os dados referentes ao pH, densidade e resíduo seco, são importantes tanto na diagnose do extrato como no seu emprego farmacotécnico, permitindo melhor ajustar formulações.

SUMMARY: Thin layer chromatography characterization of fluid extract of guaco **Mikania glomerata** Sprengel. The hexanic, chloroformic, ethyl acetate and ethanolic fractions of fluidextracted of **Mikania glomerata** Sprengel were analyzed by T.L.C. using kaurenoic acid, cinnamoilgrandifloric acid, coumarin and

stigmasterol standards to obtain the, chromatographic profile to identify that pharmaceutical material.

UNITERMS: *Mikania glomerata* Sprengel, fluid extract of guaco, Thin layer chromatografyc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. DIAS DA SILVA, R. A. - **Pharmacopéia dos Estados Unidos do Brasil**. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1929.
2. LUCAS, V. Estudo Farmacognóstico do Guaco, **Rev. Flora Med.** 9(3):101-132.1942
3. MOURA, S. R. et al. Efeito de algumas frações obtidas de estratos hidroalcoólicos e de éter de petróleo de folhas de *Mikania glomerata* Sprengel na traquéia isolada de cobaia. In: **V Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental 1990**, Livro de Resumos - Caxambú.
4. OLIVEIRA, F. **Biofarmacognosia das Espécies Brasileiras da Secção Globosae Robinson do Gênero Mikania Willdenow**. (Tese de livre docência apresentada na Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo).

