



19 Congresso de Iniciação Científica

VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE ANÁLISE CAPILAR UTILIZADO NO CONTROLE DE QUALIDADE DE TINTURAS HOMEOPÁTICAS

Autor(es)

LUCIANA BITENCOURT DE SOUZA

Orientador(es)

OLNEY LEITE FONTES

Apoio Financeiro

FAPIC/UNIMEP

1. Introdução

Um grande número de medicamentos homeopáticos é preparado a partir de tinturas homeopáticas conhecidas como tinturas-mães. Dos métodos usados ao longo dos tempos no controle de qualidade de tinturas-mães, um deles chama a atenção por sua simplicidade, praticidade e clareza. Este método qualitativo, desenvolvido por Hugo Platz (PLATZ, 1922), recebe o nome de Análise Capilar ou Capilograma. Durante muitos anos foi utilizado como o principal método de comprovação da legitimidade das tinturas-mães (SCHWABE, 1929). Contudo, caiu no ostracismo após o advento de técnicas cromatográficas mais modernas.

Na Análise Capilar, a tintura-mãe a ser analisada é empurrada por capilaridade e ascende evaporando-se. Os princípios ativos não voláteis fixam-se sobre o papel de filtro cromatográfico a uma altura que depende do estado de umedecimento do papel, o qual varia com as condições higrométricas combinadas com a temperatura do ambiente. Os diversos princípios ativos são depositados em diferentes alturas, segundo sua natureza, formando bandas coloridas por afinidade (FONTES, 2009). Desse modo, cada tintura apresenta seu espectro capilar específico, como as digitais dos dedos, não havendo um espectro igual ao outro (MARTINEZ, 1983, p. 255).

O presente projeto tem por objetivo fundamental a validação do método de Platz para ser utilizado como uma alternativa segura no controle de tinturas homeopáticas a ser realizado nas farmácias. Para tanto, os atributos a serem avaliados serão a exatidão, precisão, reprodutibilidade e seletividade (VALENTINI, SOMMER, MATIOLI, 2007).

2. Objetivos

Validar o método da Análise Capilar, desenvolvido por Hugo Platz, para ser utilizado no controle de qualidade de tinturas-mães.

3. Desenvolvimento

Para a escolha das tinturas-mães foram utilizadas as seguintes premissas: 1) devem servir de ponto de partida para a produção de medicamentos homeopáticos policrestos e/ou semipolicrestos (medicamentos mais utilizados na clínica diária); 2) devem apresentar

grupamentos químicos bem definidos, que desenvolvam reações coloridas relativamente estáveis diante de reativos gotejados diretamente nas fitas do capilograma; 3) devem apresentar teores de resíduo seco superiores ou iguais a 1%; 4) devem ser disponibilizadas por laboratórios qualificados pela Associação Brasileira de Farmacêuticos Homeopatas - ABFH; 5) devem constar das monografias da Farmacopéia Homeopática Brasileira 2ª Edição ou, na ausência destas, das publicações científicas estrangeiras admitidas por este compêndio (BRASIL, 2003). Com base nas premissas acima, foram escolhidas as tinturas-mães de *Aconitum napellus*, *Nux vomica* e *Pulsatilla nigricans*, de cada um dos três laboratórios industriais homeopáticos qualificados pela ABFH, totalizando nove tinturas-mães.

Para a obtenção dos capilogramas foram realizadas cinco análises capilares para cada tintura-mãe. Uma vez que foram utilizadas três tinturas-mães distintas (*Aconitum napellus*, *Nux vomica* e *Pulsatilla nigricans*), fornecidas por três fabricantes diferentes (A, B e C), foram preparados 45 capilogramas. Estas análises foram feitas em dois laboratórios distintos por dois analistas diferentes (Laboratório Interdisciplinar de Pesquisa, no Campus Taquaral da Unimep, e Laboratório de Farmacotécnica Homeopática da Farmácia Escola, no Campus Centro da Unimep). Portanto, foram obtidos 90 capilogramas no total. Foram anotadas as temperaturas e umidades ambientes (máxima e mínima). Para a realização das Análises Capilares foram vertidos 5 mL da tintura-mãe a ser analisada em tubos cilíndricos especiais de 5 cm de altura por 3 cm de comprimento. A seguir, foram fixadas em um suporte (formato de trave), o mais verticalmente possível, com grampos, tiras de papel de filtro (Whatmann nº 1), de 2 cm de largura por 25 cm de altura, de modo que submergiram em 3 mm da tintura-mãe contida no tubo, sem entrar em contato com suas paredes. O suporte foi colocado em uma câmara totalmente fechada (Câmara de Análise Capilar), por 24 horas. Ao término desse período, as fitas foram retiradas, cortadas a extremidades que submergiram nas tinturas-mães e deixadas a secar naturalmente (FONTES, 2009). Por último, as fitas foram fotografadas por meio de câmera fotográfica da marca Sony® (modelo Cyber-shot 10.1 mega pixels) e digitalizadas para arquivo e análise futura.

A exatidão de um procedimento analítico é a proximidade dos resultados por ele obtidos comparado ao valor verdadeiro (VALENTINI, SOMMER, MATIOLI, 2007, p. 29). Uma vez que a Análise Capilar é um método físico-químico qualitativo, não quantitativo, a exatidão foi avaliada quanto à coerência dos aspectos dos diferentes espectros capilares, tendo em vista as condições ambientais da realização dos capilogramas (umidade relativa do ar e temperatura), e os dados encontrados no laudo de análise do fabricante/fornecedor (resíduo seco e teores hidroetanólicos das tinturas-mães).

Para a verificação da precisão foram desenvolvidos cinco capilogramas para cada uma das amostras, por meio de um mesmo operador, em um mesmo local, a fim de verificar o grau de concordância entre os resultados de cada teste realizado.

Para a verificação da reprodutibilidade foram desenvolvidos cinco capilogramas para cada uma das amostras, em diferentes laboratórios, por diferentes analistas e em diferentes dias. Os laboratórios utilizados foram os seguintes: Laboratório Interdisciplinar de Pesquisa, localizado no Campus Taquaral da Unimep, e Laboratório de Farmacotécnica Homeopática da Farmácia Escola, localizado no Campus Centro da Unimep.

A seletividade é a capacidade de medir exata e especificamente um fármaco na presença de outros constituintes da amostra (VALENTINI, SOMMER, MATIOLI, 2007, p. 29). Considerando que a Análise Capilar é um método físico-químico qualitativo, não quantitativo, para avaliar a seletividade foram realizadas testes de identificação dos principais grupamentos químicos retidos nos capilogramas, para a verificação da seletividade do método. As reações para a identificação dos princípios ativos foram realizadas por meio de reagentes, que foram aspergidos diretamente nas tiras, para a obtenção de reações coradas locais (SCHRAIBMAN, 1986). Os reagentes utilizados nos ensaios de identificação dos principais grupamentos químicos foram preparados nas concentrações adequadas para o uso, segundo a descrição da Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 1988). Foram utilizados os seguintes reagentes reveladores: NaOH 1M, para as reações de identificação de *Aconitum napellus* e *Pulsatilla nigricans* (princípio ativo anemonina, coloração amarela), e HNO₃ Concentrado, para a reação de identificação da tintura-mãe de *Nux vomica* (princípio ativo brucina – coloração vermelha). Após a realização das reações de identificação e anotação dos resultados encontrados, as fitas foram fotografadas por meio de câmera fotográfica da marca Sony® (modelo Cyber-shot 10.1 mega pixels) e digitalizadas para arquivo.

Para a descrição dos espectros capilares (capilogramas) foi utilizada a metodologia proposta por Carvalho e colaboradores (CARVALHO et al, 2006), com algumas modificações. Os aspectos considerados foram os seguintes: 1) Altura da corrida: foi medida com uma régua, em cm, da parte inferior do papel de filtro até ao final da corrida. As alturas das corridas foram classificadas em alta (acima de 8 cm), média (entre 5 e 8 cm) e baixa (menos do que 5 cm); 2) Descrição das bandas: as bandas são regiões geralmente coloridas graças à presença de princípios ativos agrupados por afinidade química. Foram descritas as bandas visíveis, suas cores e larguras. A Intensidade de cor das bandas foi avaliada como vivamente colorido (+++); pouco colorido (++); muito pouco colorido (+). A largura das bandas foi medida com uma régua, em cm, de sua parte superior à parte inferior. As bandas foram caracterizadas por largas (acima de 1 cm) ou finas (abaixo de 1 cm). A franja, representada pelo limite superior da banda, foi considerada regular ou irregular; 3) Fluorescência: os capilogramas foram examinados sob a ação de luz ultravioleta (luz UV 365 nm) para registrar a existência ou não de zonas com fluorescências; 4) Reações de identificação: foram borrifados reagentes específicos diretamente sobre as fitas com os capilogramas desenvolvidos, para verificar a presença ou não de reações específicas (positivo ou negativo).

Os dados obtidos foram comparados e analisados quanto à sua coerência, já que em tese, os espectros capilares obtidos a partir das tinturas-mães oriundas de uma mesma matéria-prima deverão ser semelhantes.

4. Resultado e Discussão

Considerando os procedimentos metodológicos propostos para o presente trabalho, o método de Análise Capilar mostrou-se exato, já que as alturas alcançadas pelas corridas no papel de filtro foram compatíveis com os teores hidroetanólicos das tinturas-mães e com as condições ambientais de umidade e temperatura. Além disso, resíduos secos mais elevados e/ou corridas mais baixas permitiram bandas coradas mais intensamente, uma vez que a quantidade de princípios ativos e a contração da banda influenciam o aspecto do espectro capilar. Cabe salientar que os princípios ativos não voláteis fixam-se no papel a uma altura que depende do estado de umedecimento do papel, o qual varia com as condições higrométricas combinadas com a temperatura do ambiente e com o teor hidroetanólico da tintura-mãe. Quanto maiores as temperaturas e umidades ambientais mais elevadas serão as alturas dos capilogramas. Quanto maiores os teores hidroetanólicos, as tinturas-mães penetrarão menos no papel de filtro e, por consequência, as alturas das corridas serão mais baixas (MARTINEZ, 1983).

A figura 1 retrata adequadamente o afirmado acima para todos os capilogramas desenvolvidos. Embora dentro dos critérios estabelecidos para a definição das alturas das corridas, ou seja, alta (para medidas acima de 8 cm), média (entre 5 e 8 cm) e baixa (menos do que 5 cm), foram encontradas corridas de alturas diferentes. Isto pode ter ocorrido em função da variação da umidade relativa do ar e da temperatura ao longo das 24 horas disponibilizadas para a corrida. Dessa forma, devido aos inúmeros fatores que influenciam o fenômeno da capilaridade e o aspecto do capilograma, as tinturas-mães da prova e da contraprova, durante a execução do seu controle de qualidade, devem subir nas tiras de papel de filtro ao mesmo tempo (SCHRAIBMAN, 1986).

A precisão pode ser verificada a partir da descrição semelhante das imagens obtidas nos cinco capilogramas desenvolvidos em um mesmo laboratório, por um mesmo analista (Tabela 1). Levando-se em consideração que a precisão é o grau de concordância entre os resultados de cada teste quando aplicado de forma repetida a várias amostragens de uma mesma tintura-mãe, pode-se inferir que o método é preciso.

De modo semelhante, a reprodutibilidade também pode ser verificada a partir da descrição das imagens obtidas por diferentes analistas, em dias e laboratórios distintos (Tabela 1). Uma vez que os capilogramas apresentaram descrições semelhantes nas condições descritas, pode-se concluir que o método é reprodutível.

Tendo em vista que os resultados das reações de identificação dos principais grupamentos químicos retidos nos capilogramas foram positivos, pode-se afirmar, com base nesses procedimentos, que o método de Platz é seletivo (Tabela 2).

5. Considerações Finais

Tendo em vista as estratégias metodológicas adotadas no presente trabalho para a validação do Método de Análise Capilar, pode-se afirmar que este procedimento analítico é exato, preciso, reprodutível e seletivo. Além disso, é simples, de baixo custo e não poluente, se comparado à cromatografia em camada delgada, por exemplo. Contudo, ele não pode ser usado isoladamente como fator definidor da qualidade de uma tintura-mãe, pois além de apresentar caráter qualitativo, precisa ser submetido a outros parâmetros analíticos para a sua validação completa. Todavia, os resultados obtidos aprofundam a utilização da Análise Capilar nas análises preliminares das tinturas homeopáticas.

Referências Bibliográficas

BRASIL. Ministério da Saúde. Farmacopéia Brasileira. 4ª Ed., Parte I. São Paulo: Andrei, 1988.

BRASIL. Ministério da Saúde. Farmacopéia Homeopática Brasileira. 2ª Ed., Parte II, Fascículo 1. São Paulo: Atheneu, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 67, de 08 de outubro de 2007. Aprova o regulamento técnico sobre as boas práticas de manipulação e preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias e seus anexos. Diário Oficial da União de República Federativa do Brasil. Brasília, 9 de outubro de 2007.

CARVALHO, C. M. G.; PRUDENTE, L. R.; PEREIRA, A. C.; DE PAULA, J. R.; BARA, M. T. F. Avaliação da qualidade de extratos vegetais. Revista Eletrônica de Farmácia. 2006; 3 (2): 53-62.

FONTES, O. L. Farmácia Homeopática: teoria e prática. 3ª Ed. Barueri: Manole, 2009.

MARTINEZ, J. A. Farmacia homeopatica. Buenos Aires: Albatros, 1983.

PLATZ, H. Über kapillaranalyse und ihre anwendung im pharmaceutischen laboratorium. Leipzig: Verlag Dr. Willmar Schwabe, 1922.

SCHRAIBMAN, T. Identificação das drogas, tinturas-mães e dinamizações baixas em análise capilar através dos princípios ativos constantes. Pesquisa Homeopática (IHFL). 1986; (1): 19-21.

SCHWABE, W. Farmacopea homeopática: enumeração e descrição dos medicamentos homeopáticos com preceitos para sua preparação, comprovação e determinação do valor medicinal. 2ª Ed. (versão portuguesa). Leipzig: Dr. Wiillmar Schwabe Editor, 1929.

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G. Validação de métodos analíticos. Arq Mudi. 2007; 11 (2): 26-31.

Anexos

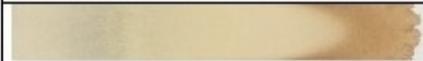
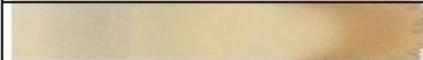
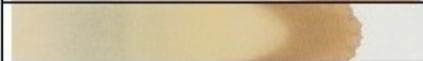
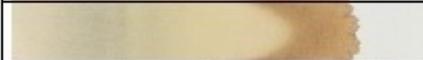
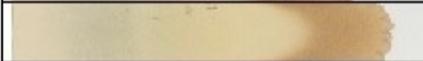
CAPILOGRAMA	U	TA	A	RS	TH
	81/70	23,0/20,2	Alta	NF	60
	81/70	23,1/20,8	Alta	NF	60
	79/71	21,0/19,6	Alta	NF	60
	79/70	21,7/20,4	Alta	NF	60
	80/74	21,7/19,8	Alta	NF	60
	49/34	20,8/19,5	Alta	NF	60
	63/55	22,1/20,2	Alta	NF	60
	63/52	22,5/21,5	Alta	NF	60
	64/58	22,7/22,1	Alta	NF	60
	66/49	24,0/23,3	Alta	NF	60

Figura 1. Capilogramas da tintura-mãe de *Pulsatilla nigricans* (Fornecedor B), sendo os cinco primeiros realizados pelo Analista 1 e os cinco últimos pelo Analista 2; U = umidade relativa do ar (%), máxima e mínima; TA = temperatura ambiente (°C), máxima e mínima. A = altura da corrida; RS = resíduo seco da TM (%); TH = Teor hidroetanólico da TM (%); NF = não fornecido.

Tabela 1. Descrição dos capilogramas.

TM	F	Descrição das bandas	Fluor.	Observações
Aco.	A	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha média (++) . Presença de bandas finas no meio da tira, de coloração marrom claro (++) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Aco.	B	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha média (++) . Presença de bandas finas no meio da tira, de coloração marrom claro (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Aco.	C	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha escura (+++) . Presença de bandas finas de coloração marrom claro no meio da tira (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Nux.	A	Franja irregular. Banda superior fina, de coloração castanha clara (++) . Presença de banda de largura indefinida, no meio da tira, de coloração marrom claro (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Nux.	B	Franja irregular. Banda superior fina, de coloração castanha clara (+) . Presença de banda fina, também de coloração castanha clara (+) , próxima da banda superior. Presença de banda fina, no meio da tira, de coloração marrom claro (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Nux.	C	Franja irregular. Banda superior fina, de coloração castanha clara (+) . Presença de banda de largura indefinida, no meio da tira, de coloração marrom claro (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Puls.	A	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha escura (+++) . Presença de banda de largura indefinida, no meio da tira, de coloração esverdeada (+) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Puls.	B	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha escura (+++) . Presença de banda de largura indefinida, no meio da tira, de coloração esverdeada (++) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.
Puls.	C	Franja irregular. Banda superior larga, de coloração castanha escura (+++) . Presença de banda de largura indefinida, no meio da tira, de coloração esverdeada (++) .	Presente	As bandas apresentaram descrições semelhantes nos 5 testes realizados para uma mesma tintura-mãe, tanto para o analista 1 quanto para o analista 2.

Legenda: TM = tintura-mãe; Aco. = Aconitum napellus; Nux. = Nux vomica; Puls. = Pulsatilla nigricans; Fluor. = presença ou ausência de fluorescência sob a ação da luz ultravioleta.

Tabela 2. Relação de tinturas-mães estudadas, princípio ativo estudado e revelador aplicado.

TM	F	Princípio ativo	Reagente	Coloração	Resultado
Aco.	A	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Aco.	B	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Aco.	C	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Nux.	A	Brucina	HNO ₃ Concentrado	Vermelha	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Nux.	B	Brucina	HNO ₃ Concentrado	Vermelha	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Nux.	C	Brucina	HNO ₃ Concentrado	Vermelha	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Puls.	A	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Puls.	B	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos
Puls.	C	Anemonina	NaOH 1M	Amarela	Positivo para todos os capilogramas desenvolvidos

Legenda: TM = tintura-mãe; Aco. = Aconitum napellus; Nux. = Nux vomica; Puls. = Pulsatilla nigricans.