



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DO MARAJÓ - BREVES
FACULDADE DE CIÊNCIAS NATURAIS

EYSHILA EVANGELISTA DO ESPÍRITO SANTOS

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BAUHINIA BLAKEANNA
DUNN(LEGUMINOSAE):** Caracterização, isolamento e identificação dos compostos
bioativos.

BREVES
2023

EYSHILA EVANGELISTA DO ESPÍRITO SANTOS

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BAUHINIA BLAKEANNA
DUNN(LEGUMINOSAE):** Caracterização, isolamento e identificação de extratos bioativos

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Ciências Naturais, do Campus Universitário de Breves, da Universidade Federal do Pará, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Naturais.

Orientador(a): Dr. Manolo Cleiton Costa de Freitas.

BREVES
2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará
Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

E92a Evangelista do Espírito Santos, Eyshila.
Atividade antioxidante de *Bauhinia blakeana dunn*
(leguminosae) : Caracterização, isolamento e identificação dos
compostos bioativos / Eyshila Evangelista do Espírito Santos. —
2023.
24 f. : il.

Orientador(a): Prof. Dr. Manolo Cleiton Costa de Freitas
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade
Federal do Pará, Campus Universitário de Breves, Faculdade de
Ciências Naturais, Breves, 2023.

1. Fitoquímico. 2. Extrato. 3. *Bauhinia Blakeanna dunn*. I.
Título.

CDD 543.17

EYSHILA EVANGELISTA DO ESPÍRITO SANTOS

**ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE BAUHINIA BLAKEANA DUNN
(LEGUMINOSAE):** Caracterização, isolamento e identificação de extratos bioativos.

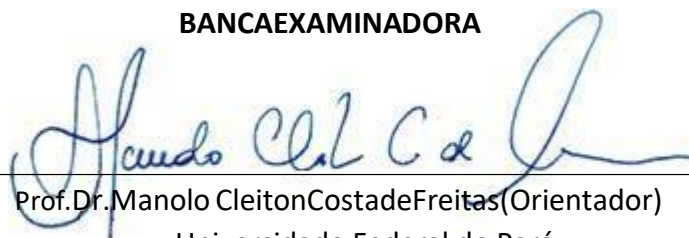
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Naturais, pela Universidade Federal do Pará.

Orientador(a): Dr. Manolo Cleiton Costa de Freitas.

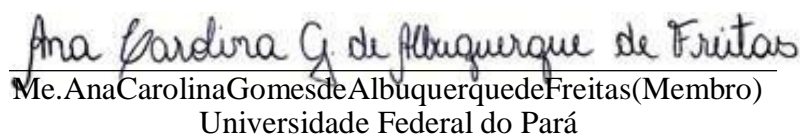
Data da aprovação: 18/12/2023

Conceito: *EXCELENTE*

BANCAEXAMINADORA


Prof. Dr. Manolo Cleiton Costa de Freitas (Orientador)
Universidade Federal do Pará


Prof. Dr. Manoel Leão Lopes Junior (Membro)
Universidade Federal do Pará


Me. Ana Carolina Gomes de Albuquerque de Freitas (Membro)
Universidade Federal do Pará

AGRADECIMENTOS

Após cinco longos anos de graduação, com muita alegria chego ao momento em que se encerra, tendo isso em vista eu não poderia deixar de agradecer aqueles que estiveram comigo desde o início da graduação e aqueles que conheci durante o caminho que foram essências nessa jornada.

Primeiramente, eu gostaria de agradecer aos deuses que sempre me protegeram, me acompanharam e me mantiveram de pé do início ao fim desta jornada. Sem a fé em qualquer área da vida, é impossível prosseguir.

Eu gostaria de agradecer imensamente as pessoas que estiveram comigo não apenas desde o início da graduação, mas desde o início da minha vida. Este agradecimento vai especialmente a minha mãe Walmilene Evangelista e meu pai Marcelo do Espírito Santo que estiveram me apoiando e sempre me recebendo de braços abertos nos dias escuros. Esse agradecimento também recai sobre toda a minha família que nunca foi apenas sangue e sim um laço que eu sempre pude contar.

Eu também gostaria de agradecer a meus amigos e companheiros de graduação que nunca me deixaram desistir e tornaram esses cinco anos mais alegres, meu muito obrigada Jesiel Aviz, Lorrane Lima, Naiara Guimarães e Sabrina Martins.

Eu agradeço também a aquelas pessoas que me ajudaram dentro do laboratório como Andressa Sanches que nunca mediu esforços para me ajudar no que eu precisava, juntamente com o técnico de laboratório Jailton que sempre teve paciência comigo e me ajudou até mesmo em feriados a desenvolver este trabalho

Meus agradecimentos também vão para meu orientador o Dr. Manolo Freitas que sempre teve muita paciência comigo e me agraciava com seus conhecimentos, sugestões e críticas construtivas.

Por último e não menos importante eu gostaria de agradecer a DAEST, que sempre ajuda os alunos da UFPA quando mais precisam e não apenas me deram um lugar para morar na Casa dos estudantes como me deram total apoio psicológico e amigos com quem pude contar na Casa dos estudantes, obrigada por me oferecer um lar, Divisão de Assistência Estudantil.

RESUMO

A planta *Bauhinia blakeanna dunn* é conhecida mundialmente por ser utilizada como hipoglicemiante, ou seja, a mesma é utilizada para a diminuição de glicose no sangue, atuando contra a doença diabetes. O trabalho em questão teve o objetivo de fazer o estudo fitoquímico e da ação antioxidante das folhas da planta. Durante o trabalho foram realizados diferentes experimentos para o conhecimento de suas propriedades fitoquímicas, seguindo metodologias pré-estabelecidas. Entre esses experimentos, como base, primeiramente foram feitos o processamento e a caracterização do pó do material vegetal com realização de determinação Granulométrica do pó onde foi possível perceber que o pó de *Bauhinia blakeanna dunn* é um pó grosso. Outros experimentos importantes foram feitos no pó da planta como a determinação de índice de intumescimento, teor de umidade e de material estranho no pó com o resultado de 1,9Ml/g, 7,9% e 0,9%, respectivamente. Em seguida realizou-se a padronização e caracterização dos extratos hidroetanólicos a parti do material vegetal pulverizado e pôr fim a realização das análises cromatográficas feitas através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Ao final da pesquisa, as análises realizadas ajudaram a entender as características fitoquímicas da planta e suas possíveis utilidades.

Palavras-chave: fitoquímico; extrato; bauhinia blakeanna dunn; análise.

ABSTRACT

The plant *Bauhinia blakeana* dunn is known worldwide for being used as a hypoglycemic agent, that is, it is used to reduce blood glucose, acting against the disease diabetes. The aim of the work in question was to study the phytochemistry and antioxidant action of the plant's leaves. During the work, different experiments were carried out to understand its phytochemical properties, following pre-established methodologies. Among these experiments, as a basis, firstly, the processing and characterization of the powder of plant material was carried out, with the Granulometric determination of the powder being carried out, where it was possible to see that the *Bauhonia blakeanna* dunn powder is a coarse powder. Other important experiments were carried out on the plant powder, such as determining the swelling index, moisture content and foreign material in the powder, with results of 1.9ml/g, 7.9% and 0.9%, respectively. Next, the standardization and characterization of the hydroethanolic extracts from the pulverized plant material was carried out and the chromatographic analyzes carried out using High Efficiency Liquid Chromatography (HPLC) were carried out. At the end of the research, the analyzes carried out helped to understand the phytochemical characteristics of the plant and its possible uses.

Keywords: phytochemical; extract; *bauhinia blakeanna* dunn; Analytics.

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 -	Determinação da distribuição granulométrica do pó das folhas de B. Blakeanna.....	14
Figura 2 -	Fotos placas cromatográficas das frações de F20 a F25 e de F26 a F30..	20
Figura 3 -	Cromatograma 50% B. Blakeanna.....	21
Figura 4 -	Cromatogramas 50% de B. blakeanna + Rutina.....	21
Figura 5 -	Cromatogramas do extrato de B. blakeanna em 265 (A) e 366,4 nm (B).....	22
Figura 6 -	Cromatogramas de B. blakeanna com 3-Rutinoside evidente.....	22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Frações obtidas no fracionamento do extrato etanólico.....	17
------------	--	----

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	OBJETIVOS	10
2.1	Objetivo geral	10
2.2	Objetivos específicos	10
3	METODOLOGIA	10
3.1	Materiais	10
3.1.1	Reagentes e soluções.....	10
3.1.2	Equipamentos.....	10
3.2	Métodos	11
3.2.1	Caracterização físico-química de <i>Bauhinia blakeana</i> Dunn.....	11
3.2.1.1	Determinação da granulometria.....	11
3.2.1.2	Determinação de índice de intumescência.....	11
3.2.1.3	Determinação de teor de umidade por balança de infravermelho.....	12
3.2.3.4	Determinação de material estranho no pó.....	12
3.2.2	Análises realizadas no extrato hidroetanólico.....	12
3.2.2.1	Determinação de pH.....	12
3.2.2.2	Determinação de densidade aparente.....	12
3.2.3	Cromatografia em camada delgada.....	13
3.2.4	Cromatografia líquida de alta eficiência.....	13
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
4.1	Caracterização físico-química de <i>Bauhinia blakeana</i> dunn	14
4.1.1	Determinação de granulometria.....	14
4.1.2	Determinação de índice de intumescência.....	15
4.1.3	Determinação de teor de umidade por balança de infravermelho.....	15
4.1.4	Determinação de material estranho no pó.....	15
4.2	Análises no extrato hidroetanólico	16
4.2.1	Determinação de pH.....	16
4.2.2	Determinação de densidade aparente.....	16
4.3	Cromatografia em camada delgada	17
4.3.1	Fracionamento do extrato.....	17
4.4	Cromatografia líquida de alta eficiência	20
5	CONCLUSÃO	23
	REFERÊNCIAS	24

1 INTRODUÇÃO

Os produtos naturais vêm se tornando um campo de pesquisa para descoberta de substâncias com caráter bioativo, sua descoberta se dá pela investigação de metabólitos sintetizados naturalmente pelas plantas (CAMPOS *et al.*, 2016). O desenvolvimento de substâncias com potencial terapêutico derivado de produtos naturais vem sendo incentivado a cada dia, principalmente na investigação de doenças negligenciadas (M VERAS *et al.*, 2012). Muitas plantas já vêm sendo investigadas sobre suas características medicinais e estudos vem sendo feitos para diferentes aplicações, partindo dos conhecimentos populares, dentre as quais podemos citar o boldo, aninga-açu, inharé, ganxuma e entre outras.

A *Bauhinia blakeanna dunn* é uma planta híbrida pertencente à família Caesalpiniaceae e foi descrita pela primeira em 1908 por Dunn como uma planta ornamental quando encontrada em Pok Fu Lam, Hong Kong (SINHA *et al.*, *apud* RAMSDEN, 2005). A planta é resultado de uma hibridização entre as espécies *Bauhinia purpúrea* e *Bauhinia variegata* onde o estudo de marcadores de repetição de sequência intersimples (ISSR) permitiu a identificação parental devido a presença de herança aditiva de alelos (LAU *et al.* 2005) e com esses dados investigativos sobre o surgimento de *B. blakeanna* comprovados, espera-se que a planta tenha efeitos farmacológicos semelhantes a *B. variegata* e *B. purpúrea* (LIU *et al.*, 2016). A *Bauhinia blakeanna dunn* é conhecida popularmente no Brasil como “Pata de vaca” sendo encontrada normalmente na região Nordeste do País (FERREIRA *et al.*, 2003).

Portanto, tendo em vista que a *Bauhinia blakeanna dunn* é uma planta híbrida que apresenta flavonoides em comum com *B. forficata* como Kaempferol, quercetina e apigenina onde *B. forficata* apresenta derivados metabólitos com comprovada ação hipoglicemiante torna-se de extrema importância a investigação destes e outros extratos, suas atividades farmacocinéticas e toxicológicas para a descoberta do composto majoritário com baixa toxicidade e efeitos colaterais reduzidos.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver o estudo fitoquímico das folhas de *Bauhinia blakeana dunn* através da caracterização, identificação e isolamento de extratos bioativos.

2.2 Objetivos específicos

- Processamento e caracterização do material vegetal;
- Obtenção, padronização e caracterização dos extratos hidroetanólicos a partir do material vegetal pulverizado;
- Análise cromatográfica através da Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

O material vegetal foi coletado na cidade de Belém do Pará, na área urbana, no estado do Pará, em dezembro de 2022 na condição de planta fresca.

3.1.1 Reagentes e soluções

Águadestilada, Hexano (Synth®), Acetato (Synth®), Etanol absoluto (Dinâmica®), Acetona (Synth®).

3.1.2 Equipamentos

Balança analítica (Shimadzu®); Agitador Magnético modelo 752E (Fisatom, São Paulo, Brasil); Estufa modelo 502 (Fanem®, São Paulo, Brasil); Geladeira modelo CRA 34 (Consul®, São Paulo, Brasil); balança determinadora de umidade (Shimadzu®); cromatógrafo a líquido Shimadzu® (UFLC, Japão).

3.2 Métodos

3.2.1 Caracterização físico-química de *Bauhinia blakeanna dunn*

3.2.1.1 Determinação da granulometria

Para que houvesse um melhor desempenho no trabalho, foram feitas outras análises que trariam mais conhecimento sobre o pó do material vegetal de *B. blakeanna Dunne* entres estas análises foi feita a determinação granulométrica dos pós, que segundo Meotti *apud* Corrêa (2011) é um procedimento essencial uma vez que corresponde um importante parâmetro para avaliar a sua biodisponibilidade, visto que essa avaliação determina a superfície de contato para interação com solvente indicando a sua dissolução. Segundo a Farmacopéia Brasileira em sua 6ª edição, a granulometria é determinada com ajuda de tamises operados por dispositivos mecânicos. Este tipo de disposto reproduz os movimentos horizontais e verticais da operação manual, através da ação mecânica uniforme. Para esse procedimento foram pesados 25g de pó que foram postos em tamises de aberturas 250mm, 400mm, 600mm e 710mm. O aparelho foi acionado por cerca de 15 minutos, ao final, um pincel foi utilizado para a remoção da amostra presa em cada tamis e devidamente pesadas. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019). O percentual retido em cada tamis foi calculado conforme Equação abaixo:

$$\% \text{retido pelotamis} = P1/P2 * 100$$

Onde:

P1 = Peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2 = Soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas); 100 = Fator de Porcentagem

3.2.1.2 Determinação de índice de intumescência

O índice de intumescência é a medida do volume ocupado pelo intumescimento de 1 g da droga, pela adição de 25 mL de água ou outro agente intumescente, em condições definidas. Para a realização do ensaio, em triplicata, foram pesados 1g da droga vegetal pulverizado e transferido para uma proveta de 25mL, após a adição de água destilada, foi agitado a cada

10 minutos, por uma hora, em seguida a mistura repousou por três horas, em temperatura ambiente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2019).

3.2.1.3 Determinação de teor de umidade por balança de infravermelho

Para que houvesse a obtenção do teor de umidade do pó, 2 g da amostra foram colocadas em uma balança para análise de umidade com lâmpada de halogênio a uma temperatura de 105°C por um tempo de 15 minutos (em triplicata). No fim, a balança demonstrou o valor do percentual da perda de umidade (Farmacopeia Brasileira, 2019).

3.2.1.4 Determinação de material estranho no pó

Material estranho é todo aquele que não consiste da definição da droga descrita na monografia correspondente. 25g da amostra foram espalhados em uma bandeja e analisadas a olho nu através de divisões feitas na horizontal e vertical. A análise seguiu as instruções da Farmacopéia Brasileira em sua 6ª edição (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019a), com adaptações.

3.2.2 Análises realizadas no extrato hidroetanólico

3.2.2.1 Determinação do pH

O pH é definido com a medida da atividade do ion hidrogênio de uma solução. Nesse procedimento de determinação de pH foi realizado em um instrumento potenciométrico calibrado com soluções tampão de pH 4,0, pH 7,0 e pH 10. Os resultados foram obtidos através da média de três repetições do procedimento (Farmacopeia Brasileira 6ª Ed, 2019).

3.2.2.2 Determinação de densidade aparente

O método utilizado para a determinação de densidade foi o método do picnômetro, indicado pela Farmacopéia Brasileira (2019), onde se utilizou três picnômetros de 20 mL, para procedimento em triplicata, previamente calibrados. A massa da amostra foi determinada através da diferenciação da massa do picnômetro vazio e cheio. Abaixo segue a equação

utilizada para determinação.

Onde:

$$\text{DR a } 25\text{ }^{\circ}\text{C} = (\text{A} - \text{B}) / \text{C}$$

Onde A é referente à massa do picnômetro com amostra, B a massa do picnômetro vazio e C é a massa de água.

3.2.3 Cromatografia em camada delgada

Segundo a Farmacopéia Brasileira (2019), a Cromatografia em camada delgada consiste em um sistema cromatográfico em que a separação dos componentes de uma mistura ocorre através da migração diferencial sobre uma fase estacionária composta por uma fina camada de adsorvente aplicado por um suposto plano, o qual pode ser constituído de diversos materiais tais como vidro, alumínio ou poliéster. As placas cromatográficas utilizadas foram de alumínio e os solventes foram hexano, acetona e metanol para montagem de sistema.

3.2.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

Com o objetivo de verificar se na espécie *B. blakeana* possuía a presença de flavonóides importantes para o desenvolvimento do estudo, foi realizada a cromatografia líquida de alta eficiência. A Farmacopéia Brasileira (2019) diz que a Cromatografia líquida de alta eficiência é uma técnica de separação fundamentada na distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida e a fase estacionária sólida, contida em uma coluna cilíndrica. Foi utilizado durante o experimento uma amostra de 30mg do extrato que foi diluída em 1mL de água destilada para melhor solubilização e levada ao banho ultrassônico, onde em seguida pôde ser utilizada para a cromatografia líquida de alta eficiência.

O método utilizado para a realização do procedimento foi híbrido com 0.0 – 15.0 min 19% ACN; 15 – 16 min 19 – 36% ACN; 20,0 – 21,0 min 36-50% ACN; 23,0 – 25,0 min 50-24%.

ACN 30 C temp. Coluna analítica de 3,9 x 150 mm C18 3 micras (Atlantis –c18) com pré- coluna; lâmpada de deutério, pressão em 100% acn = 55 bar e a 1% acn = 140bar.

4 RESULTADOS

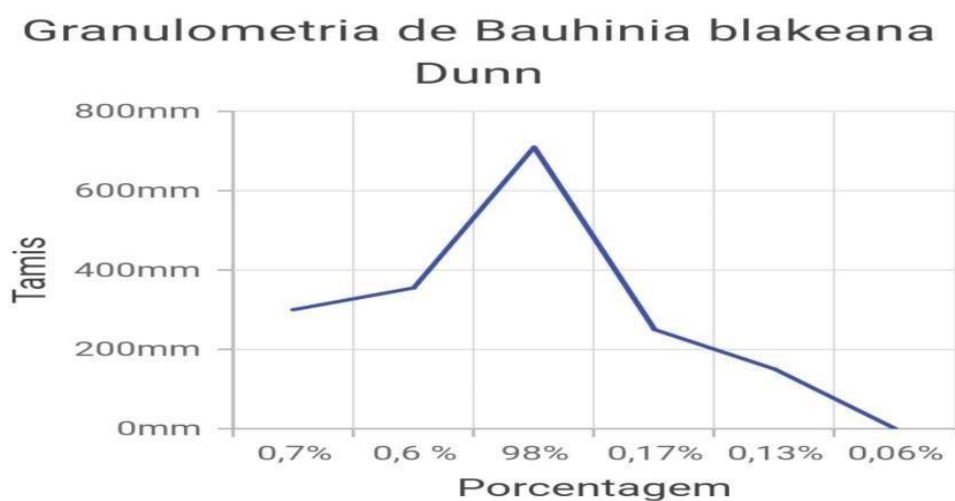
4.1 Caracterização físico-química de *Bauhinia blakeana*

4.1.1 Determinação da granulometria

Para que houvesse um melhor desempenho no trabalho, foram feitas outras análises que trariam mais conhecimento sobre o pó do material vegetal de *B. blakeana* Dunn e entre estas análises foi feita a determinação granulométrica dos pós, que segundo Meotti *apud* Corrêa (2011) é um procedimento essencial uma vez que corresponde um importante parâmetro para avaliar a sua biodisponibilidade, visto que essa avaliação determina a superfície de contato para interação com solvente indicando a sua dissolução. Foram utilizados 25g do pó de *B. blakeana* postos em um conjunto de tamises que foram distribuídos de forma uniforme, tampados e agitados por 15 minutos.

Como resultado, foi concluído que o pó de *B. blakeana* são pós grossos, de acordo com a FARMACOPÉIA BRASILEIRA VI (2019) pela referência a abertura nominal da malha do tamis utilizado, sendo um pó grosso aquele que cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de 710 μm e, no máximo 40% pelo tamis com abertura de 250 μm e os pós de *B. blakeana* Dunn tiveram 98% de seu material passando pelo tamis de abertura 710 μm e menos de 1% pelo tamis de 250 μm .

Figura 1: Determinação da distribuição granulométrica do pó das folhas de *B. blakeana*.



Fonte: Dados autor (2023)

4.1.2 Determinação do índice de intumescência

O ensaio de índice de intumescimento do pó foi realizado em triplicata seguindo o procedimento indicado pela Farmacopéia VI (2019), onde diz que o índice de intumescência é a medida do volume ocupado pelo intumescimento de 1 grama de pó do material vegetal pela adição de 25mL de água destilada. Durante este procedimento foram utilizadas três provetas graduadas de 25 mL, a parte graduada continha comprimento de 125mm e diâmetro interno de 16 mm, com subdivisões de 0,2mL marcado de 0 a 25mL. A adição de água destilada nas provetas foi feita após a adição do pó nas provetas e o material era agitado a cada 10 minutos pelo período de 60 minutos.

A mistura ficou em repouso pelo período de três horas e após esse momento o volume final do material vegetal foi medido em milímetros, subtraindo o volume inicial da amostra. O cálculo para verificação do volume da amostra foi feito pela equação indicada pela FARMACOPÉIA VI (2019), sendo:

$$It = Vf - Vi$$

Onde: It = índice de intumescência; Vf = volume final ocupado pela amostra (mL); e Vi = volume inicial ocupado pela amostra (mL).

Ao fim do ensaio o valor médio do índice de intumescência encontrado foi de 1,9 mL/g para a droga vegetal, com o desvio padrão de $\pm 0,6$.

4.1.3 Determinação do teor de umidade por balança de infravermelho

Para a realização deste experimento de determinação de teor de umidade do pó de *B. blakeana*, a droga vegetal foi espalhada uniformemente na balança analisadora de umidade por infravermelho. O procedimento foi realizado em triplicata onde o valor médio da perda de massa foi de 7,9% com variação de desvio padrão de $\pm 0,3$.

4.1.4 Determinação de material estranho no pó

Segundo a Farmacopéia Brasileira em sua 6ª edição, matéria estranha é qualquer material que não conste da definição da droga descrita na monografia correspondente onde as drogas devem ser isentas de fungos, insetos e etc. A análise seguiu as recomendações descritas na Farmacopéia com algumas adaptações. Primeiramente, 25 gramas de pó foram espalhados sobre uma bandeja, onde foram feitas divisões na horizontal e na vertical e em

seguida uma análise minuciosa a olho nu para verificação de material estranho que pudesse corromper alguma fase posterior do trabalho. Entre o material estranho encontrado estavam alguns espinhos e pequenas pedras que foram retirados manualmente. A Farmacopéia Brasileira também diz em sua 6ª edição que as porcentagens de elementos estranhos não devem superar 2% da massa analisada, onde a análise feita em *B. blakeanna* não superou 0,9%.

4.2 Análises no extrato hidroetanólico

4.2.1 Determinação do pH

Para realizar a determinação do Ph do extrato de *B. blakeanna* foi necessária a utilização de um Phmetro devidamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0; 7,0 e 10,00. Para declarar o resultado desta determinação foi realizada a média de três determinações independentes que tiveram como resultados do seu Ph os números 7,24; 7,20 e 7,19 com o valor médio de 7,21 com um desvio padrão de $\pm 0,2$.

4.2.2 Determinação de densidade aparente

A determinação da densidade do extrato hidroetanólico de *B. blakeanna* foi feita em triplicata através do método do picnômetro de acordo com a Farmacopeia Brasileira, 2019 com algumas adaptações. A densidade foi determinada com três picnômetros com suas massas vazias, com água destiladas e o extrato. As densidades foram calculadas seguindo a equação:

$$d = \frac{(m_{a2} - m_v)}{(m_{a1} - m_v)}$$

Onde: m_{a1} = massa do picnômetro + água; m_{a2} = massa do picnômetro + amostra; e m_v = massa do picnômetro vazio.

Os picnômetros utilizados no experimento eram de 25ml e tiveram suas massas pesadas com os picnomêtros vazios, com água e tintura (amostra). O resultado final da determinação de densidade foi de $0,94 \pm 0,01$, mostrando que o extrato hidroetanólico apresenta boa conservação.

4.3 Cromatografia em camada delgada

4.3.1 Fracionamento do extrato

Uma porção para análise de 10 gramas foi fracionada em uma coluna cromatográfica com sílica gel, segundo detalhamento na tabela 1.

- Solvente de empacotamento: Hexano PA.
- Massa da sílica: 80 gramas.
- Volume de eluente por fração: 100 mL.
- Número de frações obtidas: 57
- Composição do sistema de eluição:

Tabela 1 – Frações obtidas no fracionamento do extrato etanólico

ELUENTE	PERCENTAGEM	FRAÇÕES
HEXANO	(100)	F1 F2 F3 F4 F5 F6
HEXANO/ACETATO	(50:50)	F7 F8 F9 F10 F11 F12 F13
ACETATO	(100)	F14

		F15 F16 F17 F18 F19
ACETATO/ETANOL	(50:50)	F20 F21 F22 F23 F24 F25
ETANOL	(100)	F26 F27 F28 F29 F30 F31 F32 F33 F34 F35 F36 F37
ETANOL/ÁGUA DESTILADA	(70:30)	F38 F39

		F40 F41 F42 F43 F44
ETANOL/ÁGUA DESTILADA	(50:50)	F45 F46 F47 F48
ÁGUA DESTILADA	(100)	F49 F50 F51 F52 F53 F54 F55 F56 F57

Fonte: Elaborado pelo autor

As frações que foram obtidas através da cromatografia de coluna foram analisadas através da Cromatografia em camada delgada (CCDC), da seguinte forma: f20 a F25 e F26 a F30.

Frações: F20, F21, F22, F23, F24,25.

Eluente: HEX / ACETONA (70:30)

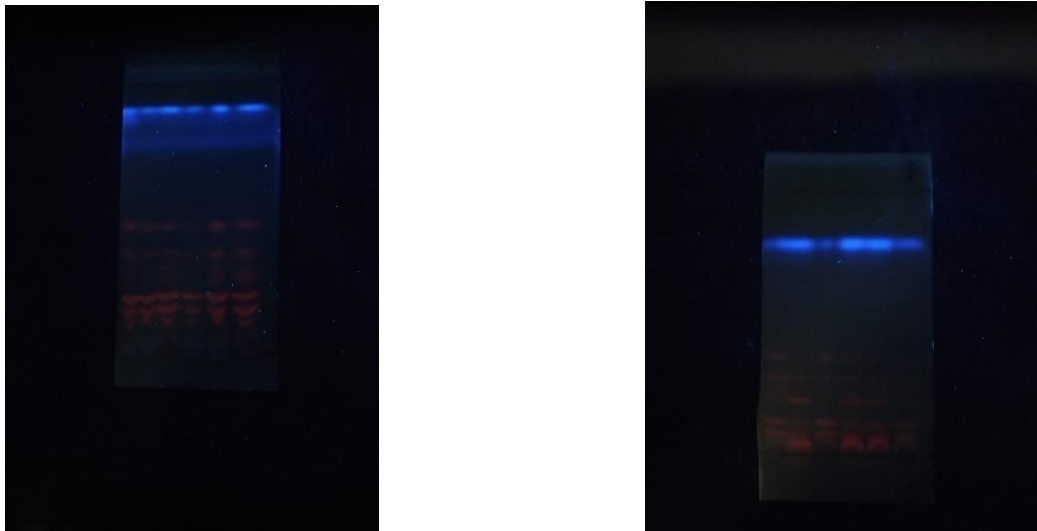
Câmara de UV

Frações: F26, F27, F28, F29, F30.

Eluente: HEX / ACETONA (70:30)

Câmara de UV

Figura 2 – Fotos placas cromatográficas das frações de F20 a F25 e de F26 a F30.



(A)

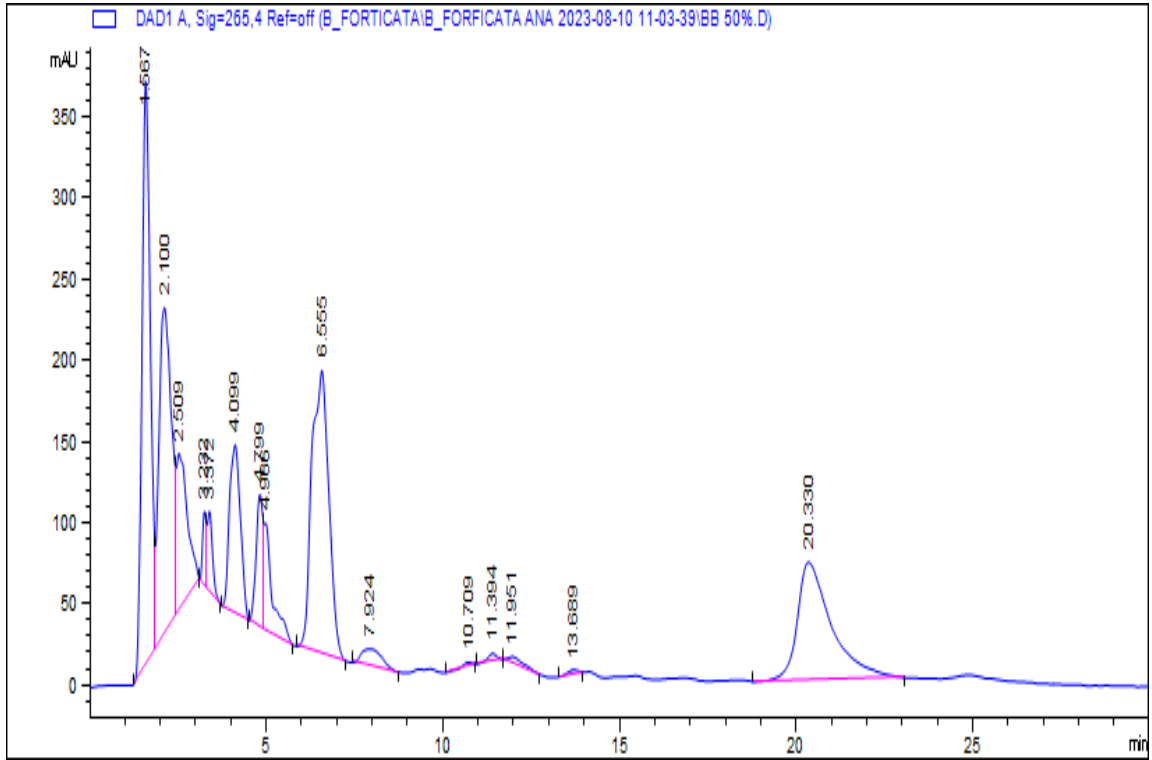
Fonte: Autoria própria.

(B)

4.4 Cromatografia líquida de alta eficiência

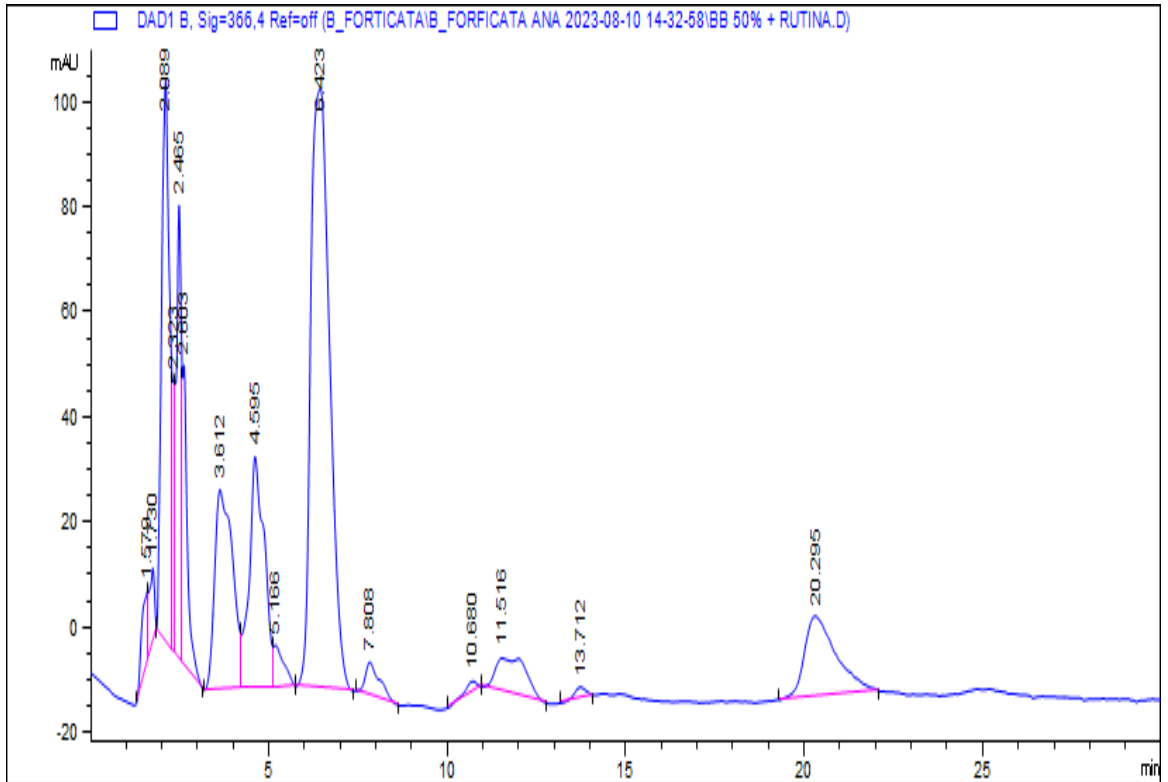
A análise de Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi feita seguindo o método apresentado no item 3.2.4 deste trabalho. Como resultado das análises obtidas através do software foi possível perceber a presença de algumas substâncias do tipo flavonóides nas amostras. Essas substâncias apareceram no extrato em tempos de retenção baixos como 265 (figura 3 A) e 366,4 nm (figura 3 B) mostram. Para ter certeza de quais seriam essas substâncias apresentadas nos gráficos da análise, foi feita outra análise de comparação para verificar se os sinais presentes no tempo de retenção 6,00 a 7,00 minutos seria a substância 3-rutinoside (figuras 4 A e 4 B).

Figura 3 – Cromatograma 50% *B. blakeanna*



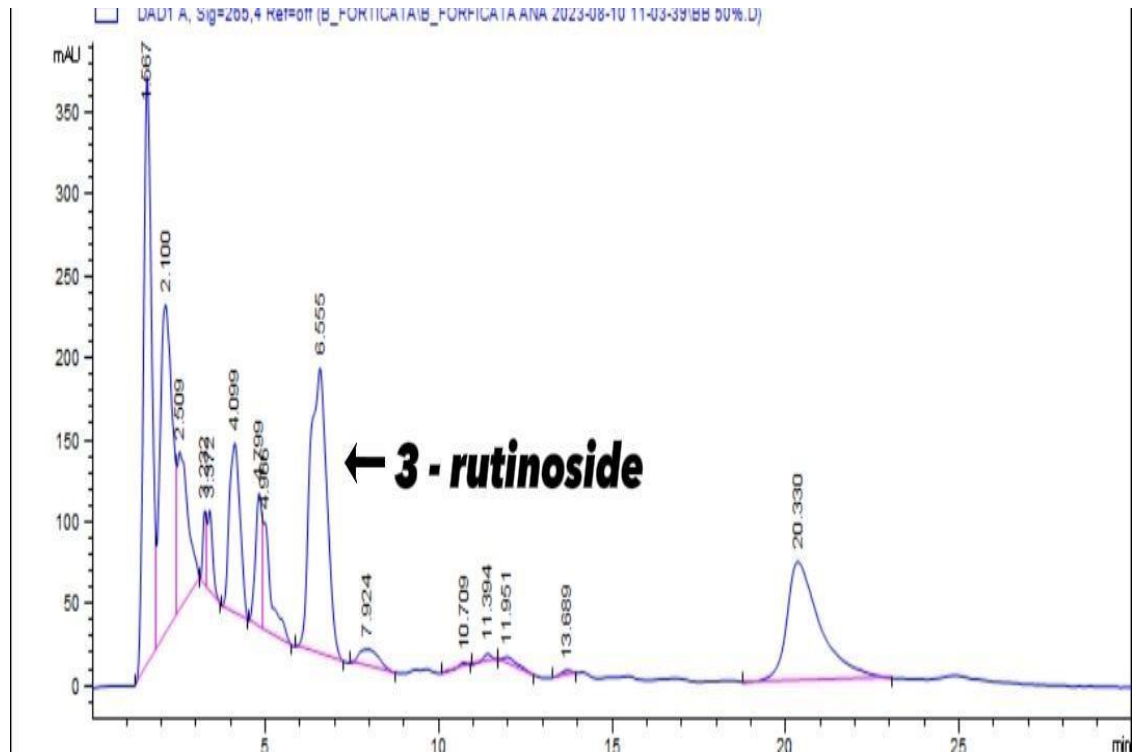
Fonte: Dados do autor

Figura 4 – Cromatogramas 50% de *B. blakeanna* + Rutina,



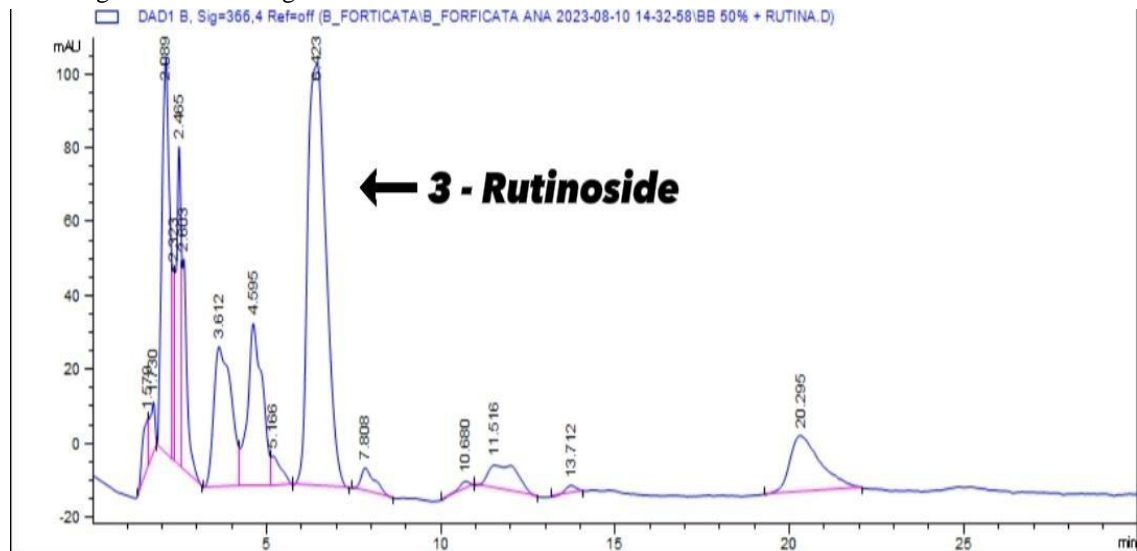
Fonte: Dados do autor

Figura 5 – Cromatogramas do extrato de *B. blakeanna* em 265 (A) e 366,4 nm (B).



Fonte: Dados do autor

Figura 6 – Cromatogramas de *B. blakeanna* com 3-Rutinoside evidente



Fonte: Dados do autor

Cromatogramas de extrato 50% de *B. blakeanna* (figura 3) e com a adição de Rutina (figura 4). Nas figuras 5 e 6 nota-se a diferença de tamanho do sinal presente entre 6,00 e 7,00 min, após a adição da substância rutina na segunda figura, após a

segunda análise, onde o sinal se torna maior e mais aparente. Desta forma, afirma-se após essa adição na amostra de *B. blakeanna* com um aumento significativo entre os 6,00 e 7,00 minutos, que há a presença de flavonoides em *B. blakeanna* como a 3-rutinoside.

5 CONCLUSÕES

Após a conclusão da pesquisa foi possível observar que a espécie *B. blakeanna dunn* é uma planta de grande potencial no meio terapêutico e que se obteve resultados físico-químico significativamente positivos como os testes de determinações no extrato hidroetanólico de densidade, ph e também na matéria prima vegetal da planta, como determinações granulométricas, de material estranho no pó, teor de umidade e intumescimento. As análises cromatográficas feitas na amostra mostram resultados importantes e sofisticados para um conhecimento mais aprofundado sobre o extrato e suas possíveis utilidades.

Todo o procedimento feito durante essa pesquisa seguiu e alcançou os parâmetros propostos pela Farmacopéia Brasileira para que se fosse obtido resultados eficientes para continuação de possíveis trabalhos. Por tanto, com este trabalho foi possível perceber a importância do estudo fitoquímico desta planta.

REFERÊNCIAS

- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Farmacopeia Brasileira**, 6^a ed., 2019.
- Araújo, A. A. de S.; Mercuri, L. P.; Seixas, S. R. S.; Storpirtis, S.; Matos, J. do R. **Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica**. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences vol. 42, n. 2, abr./jun., 2006.
- MEOTTI, F. L.; SILVA, A.C.P. da.; GUMY, M.P.; DUARTE, A.F.; CARNEIRO, V.P.P.; BENEDETTI, V.P.; VELASQUEZ, L.G. Physical, chemical and microbiological evaluation of herbal drugs used in a municipal pharmacy of manipulation. **Research, society and development**, {S.L.}, v.10, n. 8, p. e45710817557,2021. DOI: 10.33448/RSD-V10i8.17557. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/17557>. Acesso em: 9 de mar. 2023.
- BARROS, S,P,G. **Caracterização físico-química do extrato hidroetanólico das folhas de Bauhinia forficata link**. Trabalho de conclusão de curso (Graduação). Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde, Faculdade de Farmácia, Belém, 2022.
- FALCÃO,N,M,S. **Avaliação da atividade biológica de extratos vegetais contra Leishmania (Vianna) GUYANENSIS (Kinetoplastida: trypanosomatidae) e análise de frações semi-purificadas de Ceasalpinia férrea martius (Fabales: caesalpinaceae)**. Dissertação, grau de mestre, Universidade Federal da Amazônia. Manaus, 2010.
- LIU, M. *et al.* **Rapid screening of transferrin-bindersin the flowers of Bauhinia blakeanna Dunn by on-line high-perfomance liquid chromatography-diode-array detector-electrospray ionization-ion-trap-time-of-flight-mass spectrometry-transferrin-fluorescence detection system**. Journal of ChromaggraphyA. p.1-12. 27 de Abril de 2016.
- SINGH, M; SINHA, K.M; **Investigation of Bauhinia blakeanna dunn, A hibrid species**. Biosciencies Discovery, 4(1):20-24.