



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE FARMÁCIA, ODONTOLOGIA E ENFERMAGEM
CURSO DE FARMÁCIA

KARINE LIMA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS
COMO MARCADORES QUÍMICOS NAS VAGENS DE JUCÁ (*CAESALPINIA
FERREA* MART.)**

FORTALEZA

2016

KARINE LIMA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS
COMO MARCADORES QUÍMICOS NAS VAGENS DE JUCÁ (*CAESALPINIA
FERREA* MART.)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do
Ceará, como requisito parcial para a obtenção do
título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros
Bandeira

FORTALEZA

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

S578c Silva, Karine Lima.
Caracterização farmacognóstica de compostos fenólicos como marcadores químicos nas
vagens de jucá (*Caesalpinia ferrea* mart.) / Karine Lima Silva. – 2016.
43 f. : il. color.

Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Farmácia,
Odontologia e Enfermagem, Departamento de Farmácia, Curso de Farmácia, Fortaleza, 2016.
Orientação: Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira.

1. Caesalpinia. 2. Compostos Fenólicos. 3. Amidos e Féculas. I. Título.

CDD 615.321

KARINE LIMA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA DE COMPOSTOS FENÓLICOS
COMO MARCADORES QUÍMICOS NAS VAGENS DE JUCÁ (*CAESALPINIA
FERREA* MART.)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em: ____/____/____.

BANCA EXAMINADORA

Profª. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Kellen Miranda Sá (Farmacêutica)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Msc. Wellyda Rocha Aguiar (Farmacêutica)
Universidade de Fortaleza (UNIFOR)

A Deus, que permitiu que tudo acontecesse na
mais perfeita ordem e harmonia ao longo da
graduação e durante toda a minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal do Ceará e aos professores do curso de Farmácia, que sempre proporcionaram todos os meios possíveis para o aprendizado e que me deram a oportunidade de estar concluindo a graduação no curso com que sempre sonhei.

A minha mãe e minha avó, Regina e Maria, pelo amor incondicional que foi dado durante todos os momentos da minha vida.

Aos meus irmãos, Karen e Paulo Wagner, por sempre terem sido tão presentes e carinhosos, por me compreenderem e por ser meu alívio para os estresses enfrentados durante esses anos.

A minha orientadora, Profa. Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira, que sempre se mostrou mais que uma orientadora, se comportando como uma mãe para com seus alunos e demonstrando ser uma verdadeira amiga, prestando sempre todo o apoio necessário aos seus orientandos.

Aos meus melhores amigos de graduação: Davi, Jessilane, Manuel, Romário e Tâmara, por terem deixado todos esses anos mais leves e cômicos, por terem sido tão presentes nos melhores e piores momentos. A graduação não teria sido tão divertida sem a presença de vocês.

A todos os amigos que fiz durante a faculdade, pelo apoio, carinho e atenção prestados.

A todos os alunos que fazem parte do laboratório do Laboratório de Produtos Naturais, por todo companheirismo e auxílio prestado.

A dona Lourdes, que sempre esteve disposta a ajudar a todos do laboratório das mais diversas formas.

A farmacêutica do NUFITO, Angélica Brasil, pelo apoio e dedicação na elaboração das atividades desempenhadas ao longo deste trabalho.

A banca examinadora, Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira, Msc. Wellyda Rocha Aguiar e a farmacêutica Kellen Miranda Sá que cedeu uma parte de seu tempo para poder contribuir com o meu trabalho.

“Nós somos uma maneira do Cosmos conhecer a si mesmo”

Carl Edward Sagan

RESUMO

O jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart.) é uma planta que pertence à família Leguminosea - Caesalpinioideae (Caesalpinaceae) e cresce por todo o Brasil, sendo largamente distribuída nas regiões norte e nordeste, principalmente em Pernambuco e no Ceará. Possui vagem bruno amarelada, pequena, achatada, encurvada com sementes escuras e duríssimas; madeira de cerne duro. Algumas das propriedades terapêuticas das vagens de jucá têm sido descritas e inclui o tratamento de feridas e contusões, alívio de tosse crônica e asma. Além disso, algumas pesquisas demonstram que o jucá possui ação ulcerogênica e antiinflamatória, e também propriedades analgésicas. As vagens também têm sido usadas no tratamento de diabetes e na prevenção do câncer. Está inserida no Formulário Nacional de Fitoterápicos (ANVISA), indicada na forma de gel cicatrizante para uso externo. O objetivo deste trabalho foi desenvolver técnicas cromatográficas utilizando amido para purificação de compostos fenólicos nas vagens de jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart.). Foi realizada a abordagem fitoquímica segundo técnicas farmacognósticas, através da qual se detectou a presença de saponinas, esteróides e dos compostos fenólicos flavonóides, taninos pirogálicos, além de fenóis livres. O extrato acetato de etila foi preparado com auxílio de aparelho de Soxhlet. Este foi submetido à purificação em Cromatografia Preparativa de Amido Milho utilizando-se como eluente diclorometano/ metanol (9:1). Foram obtidas cinco frações codificadas como F-1, F-2, F-3, F-4 e F-5, as quais foram analisadas por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica utilizando-se como eluente diclorometano: acetona (7:3). As placas foram reveladas com auxílio de luz ultravioleta, iodo e cloreto férrico. Observa-se, entre outras, uma mancha com fluorescência na fração F2. As frações F-1, F-2, F-3 apresentaram manchas azuis com cloreto férrico, indicando serem constituídas por compostos fenólicos. Entre estas frações, a F-3 apresentou o maior nível de pureza. O uso de Cromatografia Preparativa utilizando amido de milho como adsorvente para purificação do extrato acetato de etila demonstra ser eficiente. Os trabalhos continuam em busca da identificação estrutural desses compostos fenólicos.

Palavras-chave: *Caesalpinia ferrea* M. Compostos Fenólicos. Amido de milho.

ABSTRACT

Juca (*Caesalpinia ferrea* Mart) is a tree that belongs to the family Leguminosae – Caesalpinioideae (Caesalpinaceae) and grows throughout Brazil, widely distributed the north and nordwest regions, mainly in Pernambuco and Ceara. It has dark yellow pod, small, flat, curved with hard seeds and hardwood. Some therapeutic properties of the pods of juca have been described and include wound treatment and bruises, relief of chronic cough and asthma. Futhermore, some research shows that juca have ulcerogenic and anti-inflammatory action, and also analgesic properties. The pods have also been used in the treatment of diabetes and in cancer prevention. This plant is entered in National Formulary Phytotherapic, indicated as healing in gel form. The objective of this work was develop chromatographic techniques using corn starch for the purification of phenolic compounds present in juca pods (*Caesalpinia ferrea* Mart.). The phytochemical approach was carried out according to pharmacognostic techniques whereby was detected the presence of saponins, steroids and the phenolics compounds flavonoids, pyrogallic tannins, besides free phenols. The ethyl acetate extract was prepared with the aid of Soxhlet apparatus. This one was submitted to purification on corn starch preparative chromatography using dichloromethane / methanol (9:1) as eluent. It were obtained five fractions encoded as F-1, F-2, F-3, F-4 and F-5 which were analysed by thin layer chromatography using dichloromethane / acetone (7:3) as eluent. The plates were revealed under ultraviolet light, iodine and ferric chloride, respectively. It is observed, among others, a spot with fluorescence in the fraction F-2. The fraction F-1, F-2 and F-3 showed blue spots with ferric chloride, indicating that they are constituted by phenolic compounds. Between these fractions, the fraction F-3 showed a higher level of purity. The use of corn starch preparative chromatography as adsorbent for purification of the ethyl acetate extract proves to be efficient. The work continues in search of the structural identification of these phenolic compounds.

Keywords: *Caesalpinia ferrea* M. Phenolic compounds. Corn starch.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – <i>Caesalpinia ferrea</i>	18
Figura 2 – Vagens de <i>Caesalpinia ferrea</i>	18
Figura 3 – Pauferrol A.....	19
Figura 4 – Ácido elágico.....	20
Figura 5 – Gel de <i>Caesalpinia ferrea</i>	30
Figura 6 – Teste para Taninos.....	32
Figura 7 – Teste para Flavonóides.....	33
Figura 8 – Teste para Sapoininas.....	34
Figura 9 – Teste para Esteroides.....	34
Figura 10 – PPA observada com auxílio de luz UV.....	35
Figura 11 – CCD de Sílica das frações F1-F5 revelada com vapor de iodo.....	36
Figura 12 - CCD de Sílica das frações F1-F5 revelada com vapor de FeCl ₃	36
Figura 13 - Perfil cromatográfico da F1 de Amido em comparação com o padrão.....	37
Figura 14 – CCD de Sílica comparando o padrão e o gel de <i>C. ferrea</i>	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultado da análise fitoquímica	31
Tabela 2 – Massas obtidas das frações (PPA).....	36

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CC – Cromatografia em Coluna

CCD – Cromatografia em Camada Delgada

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

COASF – Coordenadoria de Assistência Farmacêutica

CPA – Cromatografia Preparativa de Amido

NUFITO – Núcleo de Fitoterápicos

OMS – Organização Mundial da Saúde

PNAF – Política Nacional de Assistência Farmacêutica

PNPIC – Política Nacional de Prática Integrativas e Complementares

PNPMF – Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

PPA – Placas Preparativas de Amido

SESA – Secretaria de Saúde do Estado do Ceará

SUS – Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	JUSTIFICATIVA.....	17
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
3.1	Jucá (<i>Caesalpinia ferrea</i> Mart.).....	18
3.2	Constituintes químicos de <i>Caesalpinia ferrea</i>.....	19
3.3	Efeitos terapêuticos de <i>Caesalpinia ferrea</i>.....	20
3.3.1	<i>Atividade celulásica</i>.....	20
3.3.2	<i>Atividade amilásica</i>.....	20
3.3.3	<i>Atividade anticoagulante</i>.....	21
3.3.4	<i>Atividade larvicida contra <i>Aedes aegypti</i> L.</i>	21
3.3.5	<i>Atividade antiinflamatória</i>.....	22
3.3.6	<i>Atividade analgésica</i>.....	23
3.3.7	<i>Atividade hipoglicemiante</i>.....	23
3.3.8	<i>Atividade antimicrobiana</i>.....	24
3.3.9	<i>Atividade cardiovascular</i>.....	24
3.4	Utilização do amido de milho como adsorvente.....	25
4	OBJETIVOS.....	27
4.1	Objetivo geral.....	27
4.2	Objetivos específicos.....	27
5	MATERIAIS E MÉTODOS.....	28
5.1	Material.....	28
5.2	Métodos.....	28
5.2.1	<i>Abordagem fitoquímica</i>.....	28
5.2.2	<i>Preparação do extrato acetato de etila</i>.....	28
5.2.3	<i>Purificação do extrato acetato de etila em Placas Preparativas de Amido (PPA)</i>	29
5.2.3.1	<i>Análise das frações (PPA) em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica</i>.....	29
5.2.4	<i>Purificação do extrato acetato de etila em Cromatografia em Coluna utilizando Amido como adsorvente cromatográfico</i>.....	29
5.2.5	<i>Preparação do gel de <i>Caesalpinia ferrea</i></i>.....	30

5.2.5.1	<i>Análise do gel, da F1 obtida em PPA e do padrão em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.....</i>	30
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6.1	Abordagem fitoquímica.....	31
6.1.1	<i>Teste para Taninos.....</i>	32
6.1.2	<i>Teste para Flavonóides.....</i>	32
6.1.3	<i>Teste para Saponinas.....</i>	33
6.1.4	<i>Teste para Esteróides.....</i>	34
6.2	Rendimento do extrato Acetato de Etila.....	35
6.3	Purificação do extrato acetato de etila em Placas Preparativas de Amido (PPA).....	35
6.3.1	<i>Análise das frações (PPA) em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.....</i>	36
6.4	Purificação do extrato acetato de etila em Cromatografia em Coluna (CC) utilizando Amido como adsorvente cromatográfico.....	37
6.5	Análise do gel, da F1 obtida em PPA e do padrão em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.....	38
7	CONCLUSÃO.....	39
	REFERÊNCIAS.....	40

1. INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais no tratamento de doenças tem pelo menos 60 mil anos. Até o período Paleolítico, os processos de cura empregados pelos homens se baseavam na observação de animais e permitiram descobrir as propriedades terapêuticas e tóxicas de diversas plantas (COLAVITTI, 2002).

Nos séculos de colonização, a utilização de plantas medicinais para tratamento das patologias era patrimônio somente dos índios e de seus pajés (ELDIN, 2001). A população em geral utilizava medicamentos provenientes de importações, especialmente da Europa. Não existia, ademais, um conhecimento em relação ao correto armazenamento das plantas, a fim de preservar suas propriedades medicinais, ou seja, seus princípios ativos (MARTINS, et al., 2000).

O conhecimento adquirido, neste processo, embora gradual e prolongado, converteu a experiência do saber em memória coletiva como forma de repassar às gerações seguintes o legado acumulado e, dessa forma, preservando-o (PAULA, 2001).

Apesar dos registros de usos de plantas medicinais por povos de diversas culturas, no período pós-guerra a difusão da alopatia em decorrência do desenvolvimento dos medicamentos sintéticos propiciou a crença de que a tecnologia moderna havia vencido a guerra contra a doença, fazendo com que as terapias naturais perdessem o prestígio e a credibilidade (OLIVEIRA, 2008).

Mesmo com o grande e contínuo desenvolvimento da tecnologia e da ciência no campo da medicina, sua incapacidade para reverter o quadro de carecimento da população por saúde no sentido mais amplo – que envolve tanto condições adequadas e salubres de existência, quanto no acometimento psicobiológico – leva à busca de outra racionalidade em saúde (LUZ, 2012b).

Em 1978 a Organização Mundial de Saúde (OMS) a partir do reconhecimento da incapacidade da medicina tecnológica e especializante em atuar de forma plena e eficaz por meio de suas práticas terapêuticas e específicas, passou a estimular o desenvolvimento de formas simplificadas de tratamento destinadas às populações carentes e a promover a capacitação de recursos humanos, utilizando-se de modelos ligados à medicina tradicional, deixando, assim, clara a percepção da necessidade de se propor um novo modelo de atenção à saúde (LUZ, 2008).

Nesse sentido, o Brasil e outros países latino-americanos importaram antigos sistemas médicos como medicina tradicional e chinesa e a aiurvédica, além de se mobilizarem no sentido da reabilitação das medicinas populares do país. Isso foi evidenciado pelo grande desenvolvimento de farmácias e lojas de produtos naturísticos, reaparecimento de herveiros (vendedores de plantas medicinais) e divulgação nos meios de comunicação das terapias não convencionais (LUZ, 2012b).

Segundo a OMS, alguns países já contam com políticas nacionais que regulam as práticas da Medicina Tradicional, são eles: o Brasil China, Dinamarca, Gana, Japão, Noruega, República da Coreia e Arábia Saudita. A União Europeia também está desenvolvendo métodos para a regulação da qualidade dos medicamentos tradicionais e mecanismos para registrar produtos dessa abordagem (WHO, 2011).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) vem estimulando o uso da Medicina Tradicional e o Brasil, através do Ministério da Saúde, também faz movimento nesta direção, ao aprovar em 3 de maio de 2006 a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS) por meio da PORTARIA GM nº. 971, política esta que abrange a Fitoterapia (BRASIL, 2006a).

E ainda, seguindo as orientações que estimulavam a inserção da Medicina Tradicional nos sistemas de saúde, e tendo como suporte a PNPIC, em 22 de junho de 2006 por meio do Decreto nº. 5.813 o Presidente da República aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), que tem como objetivo geral garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006b).

Em abril de 2010 foi instituída a Farmácia Viva no âmbito do Sistema Único de Saúde por meio da Portaria GM nº 886, de 20 de abril de 2010, sob gestão estadual, municipal ou do Distrito Federal. Segundo a portaria, a Farmácia Viva, no contexto da Política Nacional de Assistência Farmacêutica (PNAF), deverá realizar todas as etapas (cadeia produtiva), desde o cultivo, a coleta, o processamento, o armazenamento de plantas medicinais, a manipulação e a dispensação de preparações magistrais e officinais de plantas medicinais e fitoterápicos (RODRIGUES; SIMONI; MACHADO, 2012).

Em 2011, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a primeira edição do Formulário Nacional de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira, que traz 83 monografias de medicamentos nas formas de infusões, xaropes e pomada, definindo

padrões para a produção destes, servindo como um guia para a produção dos diversos fitoterápicos. Dentre as espécies descritas no Formulário Nacional, está o jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart.) no qual apresenta como forma farmacêutica de interesse, o gel cicatrizante. (BRASIL, 2011).

2. JUSTIFICATIVA

A legislação vigente no país que dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos e o registro e a notificação de produtos tradicionais fitoterápicos, RDC 26/2014 (BRASIL, 2014), exige a quantificação de marcadores químicos utilizada como referência no controle de qualidade da matéria-prima vegetal e do fitoterápico, preferencialmente tendo correlação com o efeito terapêutico. O marcador pode ser do tipo ativo, quando relacionado com a atividade terapêutica do fitocomplexo, ou analítico, quando não demonstrada, até o momento, sua relação com a atividade terapêutica do fitocomplexo (BRASIL, 2014).

A *Caesalpinia ferrea* está inscrita no Formulário Nacional de Fitoterápicos (BRASIL, 2011), sendo indicado como cicatrizante e antisséptico (BACCHI; SERTIE, 1994; CARVALHO et al., 1996; ARAÚJO et al., 2008).

Assim, para atender às exigências legais é necessário realizar o estudo químico das vagens de *Caesalpinia ferrea* visando selecionar os seus marcadores químicos analíticos a fim de contribuir com o controle de qualidade do gel presente no Formulário Nacional de Fitoterápicos.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart.)

A espécie *Caesalpinia ferrea* pertence ao reino Plantae da divisão Angiosperma, classe Dicotiledônea, ordem Fabales, família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae, gênero *Caesalpinia* (CRONQUIST, 1981). *C.ferrea* foi submetida a uma reclassificação em 2009 e agora é conhecida como *Libidibia ferrea* (QUEIROZ, 2009). No entanto, devido aos dados químicos e farmacológicos para *C. ferrea* sendo relatados na literatura, não foi necessário mudar o nome para o presente trabalho.

Fabaceae é a segunda maior família de plantas medicinais, contendo cerca de 490 espécies com propriedades medicinais, a maioria das quais tem sido utilizadas como medicamentos tradicionais. Existem 31 espécies de plantas medicinais pertencentes a 20 gêneros da família Fabaceae que tem sido descritas na Farmacopeia Chinesa, bem como numerosas espécies que estão incluídas nessa Farmacopeia. Essas espécies possuem importantes propriedades medicinais e têm sido amplamente utilizadas como componentes de produtos farmacêuticos. (GAO et al., 2010).

A subfamília Caesalpinioideae compreende cerca de 180 gêneros e 2.500 a 3.000 espécies distribuídas em regiões tropicais e subtropicais. Embora a subfamília seja bem representada no Brasil, a maior parte das espécies ocorre na África, América e sudeste da Ásia (RIBEIRO et al., 1999).

Caesalpinia ferrea (figura 1), ocorre em toda a região Nordeste, estendendo-se até o Espírito Santo e o Rio de Janeiro, na Floresta Pluvial Atlântica (BRAGA, 1976). É encontrada em quase todo o Ceará, sendo, porém, mais frequente na Serra do Araripe, Serra do Apodi, parte leste, oeste e sul do estado (MAIA, 2004).

Figura 1: *Caesalpinia ferrea*.



Figura 2: Vagens de *Caesalpinia ferrea*.



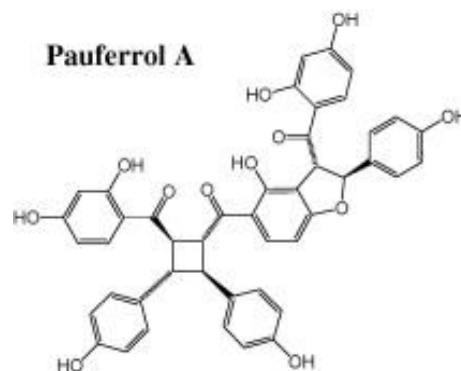
Possui flores amarelas pequenas e em cachos; frutos de cor marrom escura, do tipo legume (vagem) (figura 2), com sementes escuras; folhas compostas; altura de 10-15 m, com tronco curto de 40 a 60 cm de diâmetro que possui manchas claras (LORENZI, 2002). Sua floração ocorre na estação seca até início da estação chuvosa e a frutificação ocorre no final da estação seca e se prolonga pela estação chuvosa (CARVALHO, 2003). Tem anualmente uma alta produção de frutos. As sementes apresentam germinação numa amplitude térmica de 15 a 40°C e podem ser armazenadas por pelo menos oito meses (LORENZI, 2002). A árvore é bastante ornamental, podendo ser empregada na arborização de ruas e avenidas e aproveitadas para plantios em áreas degradadas, além de fornecer lenha e madeira para construção civil (CÔRREA, 1984; LORENZI, 2002).

3.2 Constituintes químicos de *Caesalpinia ferrea*.

Estudos fitoquímicos do extrato hidroalcoólico de cascas do caule, vagens e folhas de *Caesalpinia ferrea* tem revelado flavonóides, saponinas, taninos, cumarinas, esteróides e outros compostos fenólicos. Taninos foram os principais compostos encontrados (GONZALEZ; BARROS; BACCHI, 2004). Adicionalmente, ácido gálico, catequinas, epicatequinas e ácido elágico também foram identificados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) (VASCONCELOS et al., 2011).

Paufferol A (figura 3), um derivado das chalconas, foi isolado do caule, e a estrutura foi determinada como sendo um trímero de chalcona ligado a um anel ciclobutano (NOZAKI et al., 2007).

Figura 3: paufferol A.

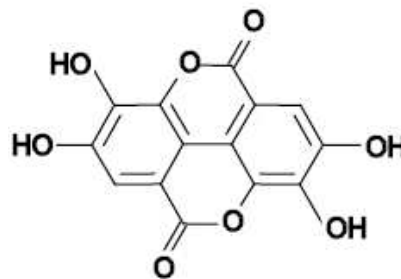


Fonte: Nozaki et al (2007)

Dímeros de chalconas, paufferol B e paufferol C também foram isolados (OHIRA et al., 2013).

Um componente isolado das vagens é o ácido elágico (figura 4), inibidor da aldose redutase, que é uma enzima envolvida nas complicações do diabetes (UEDA et al., 2001).

Figura 4: ácido elágico.



Fonte: Bobbio & Bobbio (1989)

3.3 Efeitos terapêuticos de *Caesalpinia ferrea*

Na medicina popular, são inúmeras as propriedades terapêuticas descritas para *C.ferrea*, que inclui o uso da entrecasca para o tratamento de feridas, contusões, combate à asma e à tosse crônica (BRAGA, 1976). As vagens são antidiarreicas, anticatarras e cicatrizantes e as raízes são antitérmicas (MAIA, 2004). Bacchi & Sertie (1994) descreveram o efeito do extrato aquoso bruto contra úlceras gástricas, além das atividades antiinflamatória e analgésica relatadas por Thomas et al. (1998) e Carvalho et al. (1996). De *C. ferrea* foram ainda caracterizadas as atividades cardiotônica, antimicrobiana, analgésica e antiinflamatória (CARVALHO et al., 1996), anti-histamínica, antialérgica, anticoagulante e hepatotóxica (DI STASI et al., 2002).

3.3.1 Atividade celulásica

A atividade celulásica foi detectada para o extrato aquoso das sementes de *C. ferrea*. A capacidade do extrato de degradar a celulose sugere a presença de microorganismos endofíticos na semente, onde normalmente essas enzimas são encontradas. Segundo Jussara et al. (2006), poucos trabalhos existem enfocando o isolamento de microorganismos endofíticos.

Dessa forma, eles podem representar um novo recurso na obtenção de mais enzimas com diferentes potencialidades (CAVALHEIRO et al., 2009).

3.3.2 Atividade amilásica

A atividade amilásica foi detectada no extrato da semente de *C. ferrea*. Duas hipóteses poderiam explicar sua capacidade de degradação do amido. A primeira seria a de que a semente possui, em seu interior, enzimas amilolíticas que estejam relacionadas ao processo de mobilização de nutrientes para germinação da semente. Essa hipótese pode ser apoiada por muitos estudos que reportam a presença de alfa-amilase em algumas sementes de leguminosas (KOHNO; NANMORI, 1991; YAMAMOTO, 1995). A outra hipótese seria a presença de microorganismos endofíticos no interior da semente de *C. ferrea* que sejam capazes de degradar o amido. Assim, o jucá pode ser uma nova alternativa na busca por princípios ativos de interesse na indústria biotecnológica (CAVALHEIRO et al., 2009).

3.3.3 Atividade anticoagulante

Em um estudo realizado em camundongos machos Swiss, foi observada a presença de atividade anticoagulante do extrato de sementes de *C. ferrea*. Durante um período de aproximadamente 30 minutos, o extrato apresentou atividade anticoagulante, embora não tenha persistido. Di Stasi et al. (2002) relataram a presença de atividade anticoagulante para a espécie *C. ferrea*., porém, não foi descrita a parte da planta utilizada para a detecção de tal atividade (CAVALHEIRO et al., 2009).

3.3.4 Atividade larvicida contra *Aedes aegypti* L.

Em menos de 24 h, o extrato aquoso das sementes de *C. ferrea* apresentou atividade larvicida contra *A. aegypti* com 85% de mortalidade, resultado superior aos encontrados no extrato etanólico, que apresentou 10% de mortalidade (DE S. LUNA et al., 2005). Assim, o extrato aquoso das sementes desta planta apresenta potencial de utilização no combate ao desenvolvimento do mosquito transmissor da dengue e da febre amarela (CAVALHEIRO et al., 2009).

3.3.5 Atividade antiinflamatória

Em estudo realizado com ratos, foi avaliada a resposta antiinflamatória do extrato etanólico das vagens de *C. ferrea*. O teste foi realizado avaliando-se o total de leucócitos que migravam para a cavidade intraperitoneal após a indução da resposta inflamatória com o uso do tioglicolato de sódio (3%). No modelo de indução de peritonite utilizando o tioglicolato de sódio, mastócitos e macrófagos agem para aumentar a permeabilidade vascular. Baseado na resposta do extrato etanólico de *C. ferrea*, é admitida a hipótese de que as substâncias presentes no extrato agem inibindo a ativação de mastócitos e macrófagos. (LIMA et al., 2012).

Nesse mesmo estudo, a atividade antiinflamatória das vagens de *C. ferrea* foi avaliada através do teste de edema de orelha. O extrato etanólico de *C. ferrea* (50mg/kg) reduziu o edema de orelha em 66.6% comparado ao grupo controle. A administração de solução etanólica das vagens de *C. ferrea* em ratos demonstrou a eficácia da mesma em comparação com o medicamento alopático Indometacina, normalmente utilizado em quadros inflamatórios. Essa ação ocorre provavelmente devido à redução da permeabilidade vascular (LIMA et al., 2012).

Ainda nesse estudo, para confirmar a redução do edema de orelha, o extrato foi testado no modelo de permeabilidade vascular induzido por ácido acético. Os animais foram tratados oralmente com a solução etanólica de *C.ferrea* e após 60 minutos foi administrado ácido acético na cavidade intraperitoneal. O ácido acético pode causar a liberação de mediadores, como as prostaglandinas E2 (PGE2), histamina e serotonina nos fluidos intraperitoneais, levando a um aumento da permeabilidade vascular. O extrato etanólico das vagens de *C. ferrea* inibiu significativamente a permeabilidade vascular em 66.1% comparado ao grupo controle. Esse resultado mostra que o extrato reduziu a permeabilidade e foi efetivo na primeira fase da resposta inflamatória, que é caracterizada pela ação das aminas vasoativas (LIMA et al., 2012).

Em um estudo realizado por Pereira et al. (2011), foram isoladas frações dos polissacarídeos da vagem de *C.ferrea*. (f I, f II e f III) e foi avaliada a ação antiinflamatória através dos testes de edema de pata e de indução de peritonite com ácido acético em ratos. Os resultados mostraram que as frações polissacarídicas são eficazes na redução da resposta inflamatória. Os resultados encontrados estão de acordo com o uso de infusões de diferentes

partes de *C.ferrea*. para prevenção e tratamento de distúrbios inflamatórios na medicina popular (PEREIRA et al., 2012).

3.3.6 Atividade analgésica

A atividade analgésica foi avaliada através do teste de contorção abdominal. O extrato etanólico das vagens foi administrado oralmente nos animais e após 60 minutos foi administrada uma solução de ácido acético 1% na cavidade intraperitoneal. Após 20 minutos, foi avaliado o número de contorções realizadas pelos animais. O extrato etanólico foi capaz de inibir em 74.2% (dose de 50mg/kg) o número de contrações, comparado ao grupo controle. Esses achados indicam que a atividade antinociceptiva do extrato etanólico das vagens de *C.ferrea* podem resultar da inibição direta ou indireta da liberação de mediadores pró-inflamatórios induzidos pelo ácido acético, como prostaglandinas e citocinas. O ácido acético atua indiretamente na liberação de substâncias endógenas envolvidas na modulação nociceptiva, incluindo bradicinina, serotonina, histamina e prostaglandinas (LIMA et al., 2012).

3.3.7 Atividade hipoglicêmica

No Brasil, muitos pacientes diabéticos ingerem diariamente o chá da casca do caule para o controle dos níveis glicêmicos (TEIXEIRA; MELO, 2006)

Em estudo realizado por Vasconcelos et al. (2011), foi avaliada a atividade hipoglicêmica da casca do caule de *C. ferrea*. O experimento foi realizado em ratos Wistar, previamente tratados com estreptozotocina para indução de diabetes mellitus. Os animais do grupo teste recebiam diariamente uma dose oral de 300 ou 450 mg/kg de extrato de *C. ferrea*. A administração oral de *C. ferrea*. em ratos diabéticos mostrou significantes reduções nos níveis da glicose de jejum de mais de 50% ainda na primeira semana de tratamento, quando comparado ao grupo controle (grupo não diabético) e ao grupo tratado com Metformina (medicamento alopático utilizado para o tratamento de diabetes mellitus). Ao final do tratamento, essa redução foi de 70% (300 mg/kg) e 79.5% (450 mg/kg), em comparação ao grupo controle (VASCONCELOS et al., 2011).

Ainda nesse estudo, foram avaliados os parâmetros bioquímicos relacionados ao quadro diabético. Os parâmetros bioquímicos do grupo tratado com 450 mg/kg/dia mostrou reduções estatisticamente significativas nos níveis de ureia, ácido úrico, AST, ALT, fosfatase alcalina, glicogênio hepático, colesterol total e triglicerídeos quando comparado ao grupo controle (VASCONCELOS et al., 2011)

Os principais componentes do extrato aquoso do caule e das vagens de *C. ferrea* são taninos condensados (catequinas) e taninos hidrolisáveis (ácido gálico e ácido elágico). O efeito de redução dos níveis de glicose no sangue não pode ser atribuído aos taninos hidrolisáveis. Ueda et al. (2004) mostrou que o ácido elágico obtido da vagem de *C. ferrea* não reduz os níveis de glicose de animais diabéticos, mas apenas inibe a aldose redutase, minimizando as complicações do diabetes. De fato, as catequinas e seus derivados são conhecidos por suas propriedades hipoglicêmicas e ação no controle de diabetes. Assim, é possível inferir que esses compostos podem ser responsáveis pela ação hipoglicêmica (VASCONCELOS et al., 2011)

3.3.8 Atividade antimicrobiana

Na região amazônica do Brasil, as vagens de *C. ferrea* são amplamente usadas como antimicrobianas e cicatrizantes em diversas situações, incluindo infecções orais (SAMPAIO et al., 2009).

Em estudo realizado por Sampaio et al. (2009) foi avaliada a atividade antimicrobiana do extrato metanólico das vagens de *C. ferrea*. Os resultados mostraram que houve inibição de crescimento das espécies *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sp.* e *Candida albicans* na concentração de 10^{-5} , o que indica que o extrato possui atividade antimicrobiana, impedindo a formação do biofilme (SAMPAIO et al., 2009).

3.3.9 Atividade cardiovascular

Em estudo realizado por Menezes et al (2007) foi avaliada a atividade do extrato aquoso da casca do caule *C.ferrea* sobre o sistema cardiovascular de ratos. Os parâmetros avaliados foram: frequência cardíaca, pressão arterial, atividade elétrica cardíaca e atividade vasorelaxante (MENEZES et al, 2007).

O estudo demonstrou que o extrato aquoso de *C. ferrea* induziu hipotensão associada à taquicardia nos animais normotensos. No entanto, o extrato na dose de 40mg/kg induziu bradicardias transitórias. Além disso, induziu vasodilatação na artéria mesentérica dos

ratos, que parece ser mediada principalmente pela abertura dos canais de K^+ sensíveis a ATP. Esses resultados demonstram que a planta parece ter uma ação potencial no tratamento de doenças cardiovasculares (MENEZES et al, 2007).

3.4 Utilização do amido de milho como adsorvente cromatográfico

Uma operação difícil no estudo fitoquímico é a etapa de isolamento e purificação de compostos orgânicos polares. Para atender a esta finalidade conta-se atualmente com vários tipos de adsorventes orgânicos comercialmente disponíveis a exemplo de Poliamida, Amberlite XAD₂, Sephadex, Celulose, além de outros menos usados, com os quais se têm alcançado êxito, quando aplicados na separação desse tipo de constituintes químicos encontrados em misturas complexas obtidas de plantas. Alguns desses adsorventes não permitem fracionar convenientemente componentes da mesma classe química, como foi o caso das dificuldades encontradas no isolamento dos constituintes da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), em estudo desenvolvido em trabalho anterior que resultou no isolamento de compostos inéditos identificados como sendo chalconas diméricas e outros tipos de flavonóides pela aplicação do amido cromatográfico (BANDEIRA, 2002).

Um passo importante para superar este tipo de problema foi, portanto, o desenvolvimento de técnicas cromatográficas inéditas baseadas na utilização do amido como suporte para cromatografias em camada delgada, preparativa e em coluna (BANDEIRA, 2002).

Teoricamente, tanto o amido, como a celulose (STAHL, 1969), tradicional material cromatográfico, contêm muitos grupos hidroxílicos sendo, por isso, fortemente hidrofílicos, o que justifica sua aplicação nas técnicas cromatográficas aplicadas à separação de substâncias hidrofílicas (BANDEIRA, 2002).

Na literatura consultada observou-se que as citações sobre emprego do amido em cromatografia estão datadas entre as décadas de 1960 a 1970. Canic e Petrovic usaram o amido para separar cátions (STAHL, 1969); Davidek utilizou-o em cromatografia de fase reversa (DAVIDEK, 1961; MARINI, 1964); Ramsey empregou amido parcialmente hidrolisado como suporte para separação de proteínas (RAMSEY, 1963) para eletroforese. PARIS citou apenas o uso do amido como agente ligante adicionado ao adsorvente em Cromatografia em Camada Delgada (PARIS, 1976). Os métodos cromatográficos em que se

utilizaram amido não se firmaram como instrumento analítico, dando lugar a outros que despertaram maior interesse econômico e industrial (BANDEIRA, 2002).

No trabalho de purificação e isolamento dos constituintes realizados durante o estudo da aroeira-do-sertão (*Myracrodruon urundeuva* Allemão), o amido teve o seu valor demonstrado em cada momento, ora se mostrando útil nos processos de semi-purificação preliminar, ora na fase de purificação final, permitindo resultados favoráveis quanto ao seu uso como adsorvente em técnicas cromatográficas (BANDEIRA, 2002). As técnicas desenvolvidas para isso foram elaboradas desde a preparação inicial do amido cromatográfico a partir do amido comercial, até o desenvolvimento das diversas técnicas de Cromatografia em Camada Delgada, Preparativa e em Coluna, elaboradas à partir de uma grande série de experimentos. Foi possível verificar o grande potencial da utilização do amido em técnicas cromatográficas, como sendo um método eficiente, que poderá alcançar larga aplicação nos trabalhos de fitoquímica especialmente na difícil etapa de isolamento de compostos orgânicos semipolares ou polares (BANDEIRA, 2002).

Nesse contexto o emprego do amido cromatográfico, quando da purificação e isolamento de compostos fenólicos das vagens de jucá *Caesalpinia ferrea*, no presente trabalho, poderá ser vantajoso visto que nos caules desta espécie foram identificadas também derivados de chalconas (NOZAKI et al., 2007).

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL:

Realizar a caracterização farmacognóstica de compostos fenólicos nas vagens de jucá (*Caesalpinia ferrea* Mart.) como marcadores químicos analíticos para o controle de qualidade da espécie.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Realizar a abordagem fitoquímica das vagens de *Caesalpinia ferrea*;
2. Preparar o extrato acetato de etila das vagens utilizando aparelho de Soxhlet;
3. Purificar o extrato acetato de etila utilizando Placas Preparativas de Amido (PPA);
4. Purificar o extrato acetato de etila em Coluna de Amido (CA);
5. Traçar o perfil cromatográfico do extrato acetato de etila e seus compostos fenólicos em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de sílica;
6. Produzir o gel de *Caesalpinia ferrea* segundo o Formulário Nacional de Fitoterápicos da Farmacopeia Brasileira;
7. Caracterizar compostos fenólicos por CCD no gel de *Caesalpinia ferrea*.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAL

O material botânico a ser utilizado neste estudo (vagens de *Caesalpinia ferrea*) foi coletado no Horto de Plantas Medicinais Francisco José de Abreu Matos da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza, CE. Número de exsicata constante no Herbário Prisco Bezerrada UFC: 00147.

Foram utilizados: acetato de etila PA, acetona PA, anidrido acético PA, metanol PA, cloreto de metileno PA, solução alcaloídica, solução de cloreto férrico, solução de dicromato de potássio, solução de acetato de chumbo, formol-clorídrico, acetato de sódio, ácido clorídrico PA, fitas de magnésio, ácido sulfúrico PA, éter etílico, hidróxido de amônio PA, sílica gel para cromatografia em camada delgada, amido de milho

5.2 MÉTODOS

As vagens coletadas foram trituradas em moinho de facas. Em seguida, foi preparado 300 mL de extrato hidroalcoólico 20% para a determinação dos constituintes fitoquímicos.

5.2.1 Abordagem fitoquímica

Os testes foram realizados segundo metodologia descrita por Matos (MATOS, 2009).

Foram realizados os testes caraterísticos para os seguintes constituintes: flavonóides, taninos, fenóis livres, saponinas, antraquinonas, cumarinas, digitálicos, alcalóides e antocianinas.

5.2.2 Preparação do extrato acetato de etila

A extração foi realizada utilizando acetato de etila em extrator de Soxhlet, durante 24 horas, com cartucho contendo as vagens trituradas (80g). Após esse período, a solução obtida foi concentrada em evaporador rotativo. Essa operação foi repetida cinco vezes.

5.2.3 Purificação do extrato acetato de etila em Placas Preparativas de Amido (PPA)

As placas preparativas de amido foram preparadas por meio de suspensão de amido de milho cromatográfico (90g de amido: 10g de gesso: 100 mL de água). Foram deixadas à temperatura ambiente para secagem por 24 horas (BANDEIRA, 2002).

A fração acetato de etila concentrada em evaporador rotativo foi diluída em uma pequena quantidade do solvente (acetato de etila:metanol 9:1) e logo em seguida foi aplicada na placa de amido e submetida a eluição em uma mistura de diclorometano/metanol 9:1 v/v. Após o término da corrida cromatográfica, a placa foi observada em luz ultravioleta (UV) e foram separadas manualmente as frações dos constituintes que foram isolados na corrida cromatográfica. As frações foram codificadas como F1, F2, F3, F3 e F5. Em seguida, foram retiradas da placa de amido através de raspagem, coletadas em recipientes adequados, deixadas em maceração em uma mistura de diclorometano:etanol: acetato de etila e foram filtradas e deixadas para evaporar a temperatura ambiente. Essa operação foi repetida 10 vezes para obtenção de um maior rendimento das frações.

5.2.3.1 Análise das frações (PPA) em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.

As frações que foram isoladas na Cromatografia Preparativa de Amido foram analisadas em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica, utilizando-se como eluente Diclorometano:Metanol 9:1 v/v. Os reveladores utilizados foram vapor de Iodo e Cloreto Férrico (FeCl_3) (MATOS, 2009).

5.2.4 Purificação do extrato Acetato de Etila em Cromatografia em Coluna (CC) utilizando o Amido como adsorvente cromatográfico

Para a purificação do extrato AE, foi utilizada uma coluna cromatográfica (5 cm de diâmetro), 40 g de amido cromatográfico, em dispersão com acetona. O extrato AE foi

incorporado ao amido com auxílio de um gral, e logo em seguida, depositado no topo da coluna cromatográfica. A eluição foi realizada utilizando solventes em polaridades crescentes. As frações coletadas foram analisadas em Cromatografia em Camada Delgada (CCD), reunidas aquelas que se mostraram idênticas, e codificadas por siglas. Esta etapa foi realizada para a obtenção de padrão de taninos

5.2.5 Preparação do gel de *Caesalpinia ferrea*

A preparação do gel foi realizada segundo o Formulário Nacional de Fitoterápicos (BRASIL, 2011) com a seguinte formulação:

Componentes	Quantidade
extrato glicólico do fruto de <i>Caesalpinia ferrea</i>	5%
gel base	q.s.p

O gel, Figura 5, foi preparado no Núcleo de Fitoterápicos (NUFITO), localizado na Coordenadoria de Assistência Farmacêutica da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (COASF/SESA).

Figura 5: Gel de *Caesalpinia ferrea*.



Fonte: elaborada pela autora

5.2.5.1 Análise do gel, da fração de PPA e do Padrão em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.

Para análise do marcador químico, foi realizada CCD de Sílica comparando a fase metanólica do gel com o Padrão obtido na coluna cromatográfica de amido (CCA).

Foi retirada 5 mg do gel e essa amostra foi solubilizada em 10 mL de metanol PA. Em seguida, a solução foi filtrada para a obtenção da fase metanólica, que foi usada para a realização da cromatografia.

A eluição foi realizada utilizando Metanol:Diclorometano:Acetona 4:3:3. A placa foi revelada com cloreto férrico (FeCl_3) Foi calculado o fator de retenção (Rf).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Abordagem fitoquímica

Os resultados da análise fitoquímica para as vagens de *Caesalpinia ferrea* encontram-se organizados na Tabela 1:

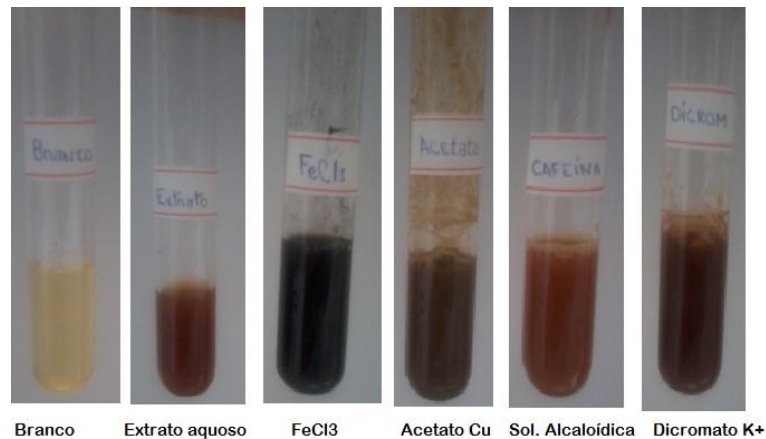
Tabela 01: Resultado da análise fitoquímica.

Classe química	Presença no extrato
Taninos Pirogálicos	+++
Taninos Catéquicos	S
Fenóis livres	+++
Flavonóides	++
Saponinas	+++
Chalconas	-
Esteróides	++
Cumarinas	O
Alcalóides	O
Digitálicos	O
Antraquinonas	O
Antocianinas	O

Forte: +++ Médio: ++ Fraco: + Suspeito: S Ausente: O Não feito: -

O teste para taninos apresenta-se positivo através da mudança de coloração ou por formação de precipitado na presença de metais pesados ou alcalóides (MATOS, 2009). Foram utilizados os reagentes: cloreto férrico, acetato de cobre, solução alcaloídica (cafeína) e dicromato de potássio. O teste mostrou-se positivo, Figura 6, na presença de todos os reagentes utilizados.

Figura 6: Teste de taninos.



Fonte: elaborada pela autora

Esse resultado está de acordo com o estudo realizado por Ueda et al (2001), que isolou o ácido elágico (tanino pirogálico) das vagens de *C. ferrea*. Esse componente está associado ao efeito hipoglicemiante relatado na literatura.

Em estudo realizado por Vasconcelos et al (2011) foi relatada a presença de catequinas e epicatequinas (taninos catéquicos) através de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Em presença de FeCl₃, os taninos catéquicos apresentam coloração verde. Não foi observada a presença de taninos catéquicos na abordagem fitoquímica realizada. Apenas de taninos hidrolisáveis, através da presença de coloração azul intensa em reação com o FeCl₃.

6.1.2 Flavonóides

Os flavonóides foram caracterizados através da reação de Shinoda. (MATOS, 2009).

Figura 7: Teste para Flavonóides.



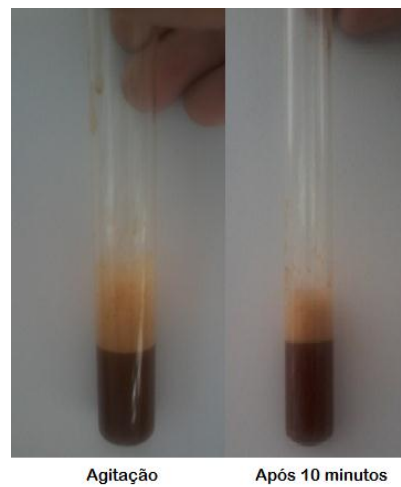
Fonte: elaborada pela autora

O extrato adquiriu coloração castanho-avermelhada (Figura7) após a reação, mostrando-se positivo para a presença de flavonóides. O resultado está de acordo com o estudo realizado por Gonzalez et al (2004). A presença de flavonóides pode estar relacionada com a ação antiinflamatória e analgésica descrita na literatura (GONZALEZ; BARROS; BACCHI, 2004).

6.1.3 Saponinas

Foi realizado o teste de persistência de espuma.

Figura 8: Teste para Saponinas.



Fonte: elaborada pela autora

O resultado mostrou-se positivo para a presença de saponinas, Figura 8, estando de acordo com os estudos descritos por Gonzalez et al. (2004). Saponinas podem se complexar com esteroides, assim apresentando ação antifúngica. Em estudo realizado por Sampaio et al (2009) foi evidenciada a inibição do crescimento da espécie *Candida albicans* frente ao extrato metanólico das vagens de *C. ferrea*.

6.1.4 Esteroides

Para avaliar a presença de esteroides foi realizada a reação de Liebermann-Buchard (extrato clorofórmico das vagens + 8 gotas de anidrido acético + 4 gotas de ácido sulfúrico concentrado).

Figura 9: Teste para Esteróides.



Fonte: elaborada pela autora

O aparecimento de coloração verde (Figura 9) provavelmente indica a presença de núcleo esteroidal. Em estudo realizado por Menezes et al (2007), foi relatada a atividade cardiotônica para o extrato aquoso da casca do caule de *C. ferrea*. Nesse estudo não foi avaliada a atividade cardiotônica com relação às vagens (MENEZES et al., 2007).

A identificação dos metabólitos secundários pelas reações gerais é importante para a caracterização das vagens e apresenta reprodutibilidade para qualquer produto ou extrato proveniente dos mesmos.

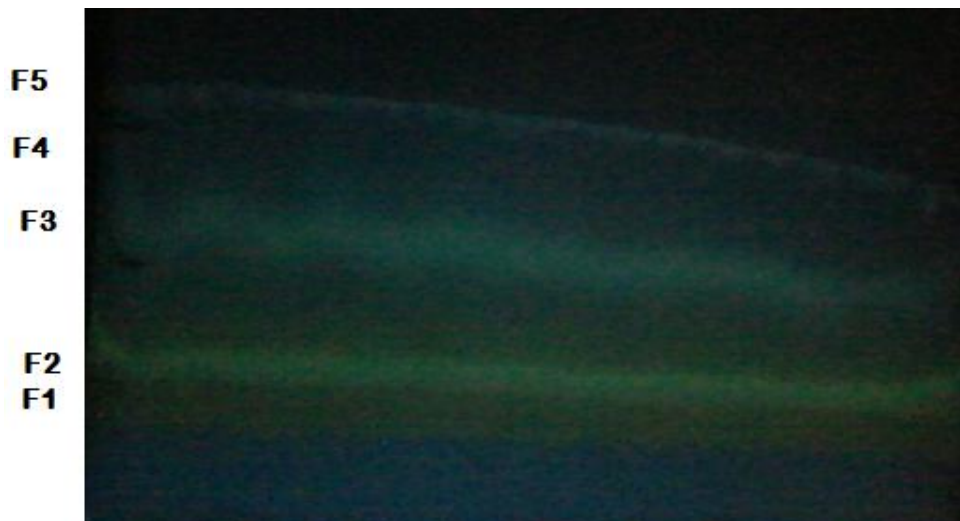
6.2 Rendimento do extrato Acetato de Etila

Após a secagem de 300 mL de extrato acetato de etila em evaporador rotativo, foi obtida uma massa de 0,338 g de extrato seco, representando 0,42% de rendimento.

6.3 Purificação do extrato acetato de etila em Placas Preparativas de Amido (PPA)

Na realização das cromatografias preparativas de amido foi observada, com auxílio de luz ultravioleta (UV), Figura 10, a separação de cinco frações, que foram codificadas: F1, F2, F3, F4 e F5.

Figura 10: PPA observada com auxílio de luz UV



Fonte: elaborada pela autora

De acordo com o gradiente de separação observado após a eluição e sob luz UV, foi possível ver que o amido cromatográfico conseguiu separar os constituintes na realização da técnica, mostrando-se ser um método cromatográfico eficiente.

A Tabela 2 indica o peso, em mg, das frações obtidas após a raspagem da placa e obtenção das frações isoladas após a purificação para a retirada do amido.

Tabela 02: Massas obtidas das frações (PPA).

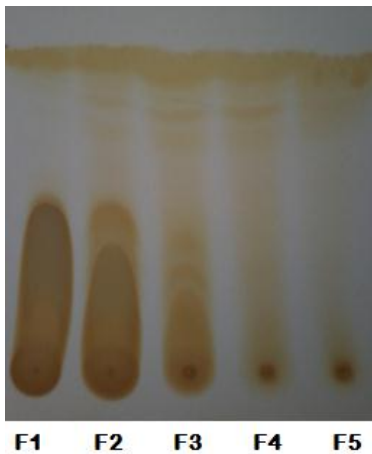
Amostra	Massa (mg)
F1	10,2
F2	10,7
F3	13,3
F4	15,2
F5	9,1

Fonte: elaborada pela autora

6.3.1 Análise das frações (PPA) em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.

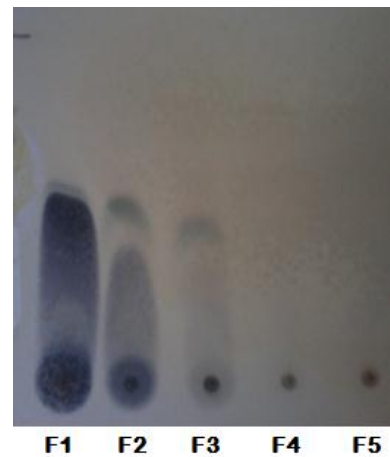
Para a melhor visualização do perfil de separação, as frações obtidas em PPA também foram analisadas em CCD de sílica. As placas foram reveladas com vapor de Iodo (Figura 11) e com Cloreto Férrico - FeCl_3 (Figura 12).

Figura 11: CCD de Sílica das frações F1-F5 revelada com vapor de iodo



Fonte: elaborada pela autora

Figura 12: CCD de Sílica das frações F1-F5 revelada com FeCl_3 .



Fonte: elaborada pela autora

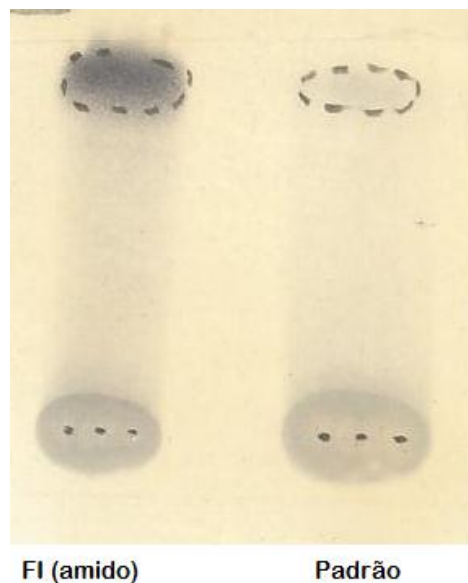
Observa-se que a separação dos constituintes foi possível utilizando o método cromatográfico em Placa Preparativa de Amido (PPA). Observa-se, na figura 12, que as frações F1, F2 e F3 foram as que apresentaram coloração azulada após aplicação do cloreto férrico, o que demonstra que essas frações são as mais ricas em compostos fenólicos.

6.4 Purificação do extrato Acetato de Etila em Cromatografia em Coluna utilizando o Amido como adsorvente cromatográfico

Durante a eluição, foram obtidas 100 frações. Estas foram avaliadas em CCD de sílica e aquelas que apresentaram o mesmo perfil cromatográfico foram reunidas e codificadas com siglas. Obteve-se uma fração com alto teor de pureza e elevado rendimento (2,101g). Essa fração foi codificada como F_P e utilizada como padrão.

Foi realizada uma CCD com o padrão obtido na Coluna Cromatográfica de Amido (CCA) e com a F1 obtida nas PPA (figura 13), pois esta foi a fração que demonstrou ter um maior teor de compostos fenólicos quando revelada com FeCl₃. A eluição foi realizada com Diclorometano: Acetona: Metanol 30:30:40 v/v .

Figura 13: perfil cromatográfico da F1 de amido em comparação com o Padrão.



Fonte: elaborada pela autora

O valor do fator de retenção (R_f) encontrado para a amostra (F1 amido) foi de 0,69 e o do Padrão também foi 0,69. Esses valores de R_f demonstram que se trata da mesma substância. A coloração azulada após revelação com cloreto férrico comprova a presença de compostos fenólicos na vagem de jucá.

Esse resultado demonstra a eficácia do amido cromatográfico na purificação de compostos fenólicos e que tanto a técnica de Cromatografia Preparativa de Amido (CPA) e

Cromatografia em Coluna de Amido (CCA) são eficientes na purificação de compostos fenólicos, com comportamento cromatográfico semelhante.

6.5 Análise do gel, da F1 obtida em PPA e do Padrão em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) de Sílica.

Para controle de qualidade e avaliação da presença de compostos fenólicos no gel de *Caesalpinia ferrea* produzido, foi realizada uma CCD de sílica (Figura 14).

Figura 14: CCD de Sílica comparando o padrão e o gel de *C. ferrea*.



Fonte: elaborada pela autora

Observa-se que o perfil cromatográfico do gel apresenta comportamento similar com o do padrão. De acordo com a CCD de sílica, pode-se afirmar que o gel contém os compostos fenólicos presentes nas vagens de *C. ferrea*, sendo eles os responsáveis pela ação terapêutica (cicatrizante) (BRASIL, 2011). O Fator de Retenção (Rf) calculado foi de 0,61 para as duas amostras.

O fator de retenção (Rf) é a razão entre a distância percorrida pela amostra e a distância percorrida pelo eluente durante a corrida cromatográfica. De acordo com os resultados de Rf obtidos, pode-se afirmar que o gel de jucá produzido, possui o composto fenólico presente no padrão.

7. CONCLUSÃO

A abordagem fitoquímica confirmou a presença de taninos, flavonóides, saponinas e esteroides, estando de acordo com os estudos realizados por Gonzalez et al (2004) e Carvalho (2003).

O perfil cromatográfico do extrato acetato de etila das vagens de *Caesalpinia ferrea* demonstrou que a F1 extraída a partir do extrato acetato de etila e separada em Cromatografia Preparativa de Amido possui maior teor de compostos fenólicos, podendo ser utilizada no controle de qualidade do gel que está descrito no Formulário Nacional de Fitoterápicos.

O amido cromatográfico demonstrou ser um meio satisfatório de separação dos constituintes químicos nas vagens de *Caesalpinia ferrea*. A fração acetato de etila extraída das vagens trituradas apresentou elevada concentração de compostos fenólicos, servindo de padrão para trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARAÚJO, T. A. S., ALENCAR, N.L., DE AMORIM, E. L. C., ALBUQUERQUE, U. P. A new approach to study medicinal plants with tannins and flavonoids contents from the local knowledge. **Journal of Ethnopharmacology**, 120, 72–80, 2008.

BACCHI, E.M; SERTIE, J.A.A. Antiulcer action of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea* in rats. **Planta medica**, v.60. n.2, p.118-120,1994.

BANDEIRA, M. A M. ***Myracrodruon urundeuva* Allemão. (Aroeira-do-sertão): Constituintes Químicos Ativos da planta em desenvolvimento e adulta.** Fortaleza: 2002, 322f., Tese (Doutorado em Química Orgânica), Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, Universidade Federal do Ceará.

BRAGA, R. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** Fortaleza: Departamento Nacional de Obras Contra as Secas, 1976. 540p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Política Nacional de Prática Integrativas e Complementares no SUS – PNPIC – SUS.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 92p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006b. 92 p.

BRASIL. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira.** Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília; Anvisa, 2011.p 102.

CARVALHO, P.E.R. Espécies arbóreas brasileiras. Colombo: EMBRAPA Florestas, 2003. v. 1, 1039p.

CARVALHO, J.C.T et al. Preliminary studies of analgesic and anti-inflammatory properties of *Caesalpinia ferrea* crude extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v.53, p. 175-178, 1996.

CAVALHEIRO, M. G. et al. Atividades biológicas e enzimáticas do extrato aquoso de sementes de *Caesalpinia ferrea* Mart., Leguminosae. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 19, n. 2 B, p. 586–591, 2009.

COLAVITTI, F. Poder Verde. **Revista Galileu**, Rio de Janeiro, nº 129, abril, 2002. p. 53-64

CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981.

CORREA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. **Imprensa Nacional**, v.3, p.267-269, 1984.

DAVIDEK, A. Reversed Phase Chromatography. **J. Nature**, v.189, p.487, 1961.

DI STASI L.C.; HIRUMA-LIMA, C. A.; SOUZA-BRITO, A. R. M.; MARIOT, A.; SANTOS C. M. **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. São Paulo, UNESP, 2002

ELDIN, S. DUNFORD, A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. São Paulo: Manole; 2001.

GONZALEZ, F. G.; BARROS, S. B. M.; BACCHI, E. M. Atividade Antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* Mart. **Anais Semana da Farmacêutica de ciência e tecnologia**. São Paulo: Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, 2004. 79p.

JUSSARA, A. et al. Enzymatic Activity of Endophytic Bacterial Isolates of *Jacaranda decurrens* Cham . (Carobinha-do-campo). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 49, n. May, p. 353–359, 2006.

KOHNO, A; NANMORI, T. Changes in A and B- Amylases e Activities during seed germination of Clover *Trifolium*. p. 167-170, 1992.

LIMA, S. M. A et al. Anti-inflammatory and analgesic potential of. n. June 2007, p. 169–175, 2012.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002. 162p.

DE S. LUNA, J. et al. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199–206, 2005.

LUZ, M.T. **Novos Saberes e Prática em Saúde Coletiva: Estudo sobre Racionalidade Médicas e Atividades Corporais**. 3ed. São Paulo: Hucitec, 2012.

LUZ, M.T. Cultura contemporânea e medicinas alternativas: novos paradigmas em saúde no fim do século XX. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 15, 2008.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica, Leitura & Arte, 2004, 413 p.

MAIA, G. N. **Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades**. São Paulo: D&Z Computação Gráfica, Leitura & Arte, 2004, 413 p.

MARINI, B.C. Thin Layer Chromatography. New York: Elsevier Publishing Company, p. 117, 1964.

MARTINS, E.R.; Castro, D.M.; Castellani, D.C; Dias, J.E. **Plantas medicinais**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2000.

MATOS, F.J.A. **Introdução a fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Ed. UFC, 2009. 150p.

MENEZES, I. A C. et al. Cardiovascular effects of the aqueous extract from *Caesalpinia ferrea*: involvement of ATP-sensitive potassium channels. **Vascular pharmacology**, v. 47, n. 1, p. 41–47, 2007.

NOZAKI, H. et al. Pauferrol A, a novel chalcone trimer with a cyclobutane ring from *Caesalpinia ferrea* Mart exhibiting DNA topoisomerase II inhibition and apoptosis-inducing activity. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 47, p. 8290–8292, 2007.

OHIRA, S.; TAKAYA, K.; MITSUI, T.; KIDO, M.; KAKUMOTO, K.; HAYASHI, K.; KUBOKI, A.; TANI, H.; IKEDA, S.; IINUMA, M.; *et al.* New chalcone dimers from *Caesalpinia ferrea* Mart act as potente inhibitors of DNA topoisomerase II. **Tetrahedron Lett.** **2013**, *54*, 5052–5055.

OLIVEIRA, E.B. de. **Estudo Etnofarmacológico de plantas medicinais em Plantas Medicinais em Rosário da Limeira – MG**. 2008. 99f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

PARIS, R. R.; MOYSE, H. **Matière Medicale**. (Collection de Précis de Pharmacie). 2ed. França: Masson S.A, 1976, v. I – III.

PAULA, C. R. Tendências em fitoterápicos. Notícias Galena, São Paulo: Companhia Editorial Nacional, ano 11, ed. 91, p. 16-19, ago/set, 2001.

PEREIRA, L.P et al. Polysaccharide fractions of *Caesalpinia ferrea* pods: Potential anti-inflammatory usage. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 139, p. 642-648, 2012.

QUEIROZ, L.P. *Leguminosas da Caatinga*, 1st ed.; State University of Feira de Santana Press: Feira de Santana, BA, Brazil, 2009; p. 443.

RAMSEY, H. A Hydrolised Starch for Thin – Layer Chromatographic Separation of Proteins. **Anal. Biochem.**, V.5, p.83, 1963.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINE, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A.C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. **Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central**. INPA, Manaus, Amazonas, 1999, 816 pp.

RODRIGUES, A.G.; SIMONI, C. de; MACHADO, G.N. As plantas medicinais e fitoterapia no contexto da atenção básica/Estratégia Saúde da Família. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Práticas integrativas e complementares**. Plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 25-34 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica ; n. 31).

SAMPAIO, F. C. et al. In vitro antimicrobial activity of *Caesalpinia ferrea* Martius fruits against oral pathogens. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 124, n. 2, p. 289–294, 2009.

STAHL, E. **Thin Layer Chromatography**. 2ed. New York: Toppan Printing Co Pte Ltd, 1969, 1041p.

TEIXEIRA, S.A.; MELO, J.I.M.; Plantas medicinais utilizadas no município de Jupi, Pernambuco, Brasil. IHERINGIA. Série Botânica 61, 5–11, 2006.

THOMAS, G.; ARAÚJO, C.C; SOUZA, P.S. Avaliação das atividades anti-inflamatória, analgésica e antipirética dos extratos aquosos de *Caesalpinia ferrea*, *Plantago major*, *Polygonum acre* e *Pterodon polygaeflorus*. 10th Brazilian Symposium in Medicinal Plants. São Paulo, Brasil, 1998.

UEDA, H.; TACHIBANA, Y.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K.; ALVES, S. M. Aldose reductase inhibitors from the fruits of *Caesalpinia ferrea* Mart. **Phytomedicine**, Jena, v. 8, n. 5, p. 377-381, 2001.

UEDA, H. et al. Effects of ellagic acid and 2-(2,3,6- trihydroxy-4-carboxyphenyl) ellagic acid on sorbitol accumulation in vitro and in vivo. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, n. 27, p. 1584–1587, 2004.

VASCONCELOS, C. F. B. et al. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, n. 3, p. 1533–1541, 2011.

WHO. **The world medicines situation 2011**: traditional medicines: global situation, issues and challenges. Geneva: WHO, 2011. 12p.

YAMAMOTO, T. *Enzyme Chemistry and Molecular Biology of Amylases and Related Enzymes*. Amylase Research Society of Japan, CRC Press, 1995. 206 p.