

AVALIAÇÃO BIOLÓGICA DA PLANTA MEDICINAL (*BAUHINIA FORTICATA*) FRENTE A BACTÉRIA *ESCHERICHIA COLI*, UTILIZANDO UM SISTEMA DE INJEÇÃO EM FLUXO.

Jonas Alves Vieira* (PQ) jonas@ueg.br , **Mateus Lima Ramos (IC)**.

Universidade Estadual de Goiás, Câmpus Henrique Santillo - Br 153 Quadra Área Km 99 - Zona Rural, Anápolis - GO, 75132-903.

As amostras das folhas de pata de vaca foram utilizadas para verificação de algumas propriedades, visto que se utilizou das etapas de coleta, trituração das folhas, pesagem, preparação das amostras com adição de etanol 92%, várias filtrações para que o solvente absorvesse as substâncias de interesse, que logo após foram levadas ao equipamento evaporador rotativo com a finalidade de obter um extrato sem a presença do etanol, o mesmo foi recuperado. O extrato foi armazenado em condições adequadas para posterior análise com o auxílio de um sistema em fluxo, com detecção condutométrica.

Foram realizados então testes de prospecção em um extrato puro (folhas trituradas) das amostras das folhas de pata de vaca, da família *bauhinia forticata*, a qual possui propriedades medicinais, tais como: expectorantes, vermífugas, purgativas diurética e antidiabética. Verificou-se a presença de princípios ativos como taninos e glicosídeos cujas presenças apresentavam características individuais para cada tipo de princípio analisado.

Palavras-chave: Planta medicinal. Pata de vaca. Extrato etanólico. Detecção.

Introdução

Pata de vaca (*bauhinia forticata*) da família das Leguminosas. A Casca e o caule possuem propriedades expectorantes, as raízes são vermífugas, as flores purgativas e as folhas são diuréticas e recomendadas como antidiabéticas. Princípio ativo, taninos, flavonoides e glicosídeos. É natural da Amazônia ocorrendo no cerrado e América central também. Tem sido usado pela população indígena e ribeirinha dessas regiões há centenas de anos. Os usos nativos de pata de vaca bem não são documentados, mas muito tempo seguiu um lugar em medicina herbácea brasileira.

As técnicas empregando sistemas em fluxo, pode propiciar grandes contribuições no monitoramento de princípio ativo de plantas, devido sua grande evolução e diversificação, tanto com relação às configurações estruturas dos sistemas, como no tocante a automação das análises químicas (MOREIRA et al, 2005, VIEIRA et al, 2006, SANTOS e MASINI, 2010).

Desde as primeiras contribuições, esses sistemas vêm se destacando como alternativas viáveis para análises químicas e biológicas, em diferentes ramos da ciência (SANTOS e MASINI, 2010). Ressaltando que a estrutura de um módulo de análise para esses sistemas, pode ser facilmente modificada para adequar-se às condições de análises, requeridas por diferentes métodos químicos (VIEIRA et al, 2006, SANTOS e MASINI, 2010, CUNHA e VIEIRA 2014).

Dentre os mais importantes metabólitos de plantas, os alcalóides, terpenos e flavonóides são tradicionalmente citados. Os lignóides obtiveram destaque, em

especial os grupos das neolignanais. Representantes dessas classes tem apresentado atividade comprovada em vários sistemas biológicos, destacando-se como antitumorais e antivirais, hepatoprotetores, inibidores enzimáticos, neurolépticos, anti-inflamatórios e antimicrobiano, etc (WITTING, 1987, LIMA et al 2010).

Resultados e Discussão

Primeiramente realizou-se pesquisas bibliográficas para um melhor entendimento referente a planta *Bauhinia Forticata* da flor branca, bem como em relação aos objetivos pretendidos. Também foi realizado estudos sobre a bactéria *Escherichia Coli* para entender os pequenos riscos e saber quais os devidos cuidados que deveriam ser tomados, como por exemplo ao preparar o meio de cultura, inoculação da bactéria, cuidado na esterelização de todo material, e vários métodos para garantir a proteção individual e não contaminar as amostras. Com base nas informações obtidas, fez-se a coleta da amostra das folhas da planta pata-de-vaca da flor branca, que foi realizada juntamente com o orientador na cidade de Goiânia-Go.

Após a coleta da amostra, iniciou-se o pré-tratamento da mesma, o material foi colocado em uma estufa com temperatura mantida em 38°C, com ventilação forçada, durante três dias para a secagem adequada. A amostra foi triturada, tendo assim a conversão da amostra bruta em laboratorial, que foi utilizada para os testes de prospecção para alcaloides, antraquinonas, saponinas e taninos, e para a extração etanólica. Fez-se dez extrações etanólicas, utilizando 300g de cada amostra laboratorial, usando em média um litro de álcool etílico em cada etapa de extração, cada etapa era mantida na geladeira em torno de 3 a 6 dias.

A partir do extrato bruto fluido obtido na extração, iniciou-se a rotaevaporação do etanol, na temperatura de 35° a 40°C, para a obtenção do extrato bruto etanólico (EBE) seco, os quais se encontram armazenados, cujo a etapa seguinte é fazer o fracionamento e os testes biológicos frente à bactéria *Escherichia coli*.

Figura 1 – Amostra das folhas trituradas com adição de etanol 92% para obtenção do extrato bruto etanólico.



Após a adição do solvente na amostra triturada, recobriu-se para evitar que a luz realizasse um processo de fotossíntese. O recipiente foi levado ao refrigerador e posteriormente era filtrado e adicionado etanol novamente de três em três dias. Repetiu-se o processo por dez vezes. O extrato bruto etanólico então armazenado em vários frascos foram levados ao evaporador rotativo inseridos em um balão de fundo redondo para que fosse obtido um extrato bruto seco.

Figura 2 – Balão contendo amostra de estudo, levado ao equipamento rota-evaporador.



Realizou-se também um treinamento na parte operacional do sistema de análise por injeção em fluxo com detecção condutométrica. Onde se utilizou um meio de cultura com a bactéria *Escherichia coli*, tirou-se leituras do equipamento: espectrofotômetro e condutivímetro, onde observou-se um crescimento da bactéria que pôde ser identificado pela coloração da amostra. Congelou-se para posterior utilização.

Realizou-se os testes de prospecção com amostras das folhas trituradas, verificou-se a presença dos princípios ativos: antraquinonas, saponinas, alcaloides e taninos. Cada substância apresenta características individuais, como por exemplo, os taninos têm propriedades adstringentes e hemostáticas.

Figura 3 – Teste de prospecção para verificar a presença de Saponinas.



As saponinas são substâncias adjuvantes em formulações, componentes ativos em drogas vegetais, ou ainda matéria-prima para síntese de esteroides.

Os testes foram realizados da seguinte forma:

- Ferveu-se 2g da droga triturada e adicionou-se 10mL de água destilada por 3 minutos;
- Filtrou-se;
- Agitou-se energeticamente por 15 segundos;
- Deixou-se em repouso e verificou-se a formação de espuma persistente.

Os resultados foram positivos pois houve a formação da espuma persistente como pode ser observado na figura 3.

Figura 4 – Teste de prospecção para verificar a presença de antraquinonas.



As antraquinonas são empregados terapeuticamente como laxativos e cartáticos, por agirem irritando o intestino grosso. As antraquinonas são quimicamente definidas com substâncias fenólicas derivadas da dicetona e antraceno. Os testes foram realizados através da reação de Borntrager direta:

-Colocou-se 1g de pó da amostra em um tubo de ensaio e adicionou-se 5mL de solução de Na_4OH diluído.

A reação de Borntrager direta foi dada como positiva devido à coloração esperada ser rósea ou avermelhada como pode ser observada na figura 4 (tubo A).

Figura 5– Teste de prospecção para identificação de Alcalóides.



Os alcaloides são utilizados em medicamentos pois estimulam o sistema nervoso central. A função dos alcalóides de plantas ainda não é compreendida. Tem sido sugerido que eles são simplesmente produtos residuais de processos metabólicos das plantas, mas a evidência sugere que eles possam servir funções biológicas específicas. Essas substâncias podem também proteger algumas plantas da destruição por certas espécies de insetos. Os testes foram realizados em dois passos.

Extração:

-Colocou-se cerca de 2g do pó da amostra em um tubo de ensaio, adicionou-se 20mL de H_2SO_4 a 1%, ferveu-se por 2 minutos, filtrou-se com algodão, resfriou-se.

Pesquisa direta:

-Distribuiu-se o filtrado em tubos de ensaios, gotejou-se os reativos gerais de alcaloides (RGA), comparando com o branco. Os resultados podem ser conferidos na tabela 1 e na figura 5.

Tabela 1 – Resultados para alcaloides.

REATIVO	COLORAÇÃO E RESULTADO OBTIDO/ ESPERADO
Dragendorff	Alaranjado - positivo
Mayer	Turvado alaranjado - negativo /branco = positivo
Bertrand	Turvado alaranjado – negativo /branco = positivo
Bouchardat	Marrom - positivo
Ácido tânico	Turvado alaranjado- positivo
Hager	Amarelo- positivo

Figura 6– Teste de prospecção para identificação de Taninos.



Os taninos são substâncias adstringentes e hemostáticos, e portanto, suas aplicações terapêuticas estão relacionadas com essas propriedades. São empregados principalmente na indústria de curtume e têm também aplicação na indústria de tintas. São usados em laboratórios para detecção de proteínas e alcaloides e empregados como antídotos em casos de envenenamento por plantas alcaloídicas. Os testes foram realizados da seguinte forma:

-Preparou-se uma extração com 5g do pó da amostra com 100mL de água destilada, filtrou-se e resfriou-se.

Reação com acetato de chumbo:

-Adicionou-se 5mL da extração A com 10mL de solução de ácido acético a 10% + 5mL da solução de acetato de chumbo a 10%.

Observou-se a formação de um precipitado branco que pode ser identificado na figura 6 (tubo 1), indicando a presença de taninos, teste positivo.

Considerações Finais

Concluiu-se etapas fundamentais deste projeto, que apresentaram resultados satisfatórios indicando a presença de algumas substâncias consideradas terapêuticas nas folhas da planta em estudo (pata-de-vaca). Realizou-se procedimentos de preparação de amostras, coleta, secagem, trituração, extração com solvente, filtração e roto-evaporação para obtenção de um extrato bruto etanólico. Tais atividades foram de suma importância para a continuidade das etapas seguintes do projeto.

Agradecimentos

Agradeço à Deus por estar me dando forças para estar sempre trabalhando neste projeto apesar das dificuldades da faculdade. A esta universidade, e ao meu orientador Jonas Alves Vieira por ter me proporcionado esta oportunidade de poder trabalhar com ele. Também agradeço à minha família e a todos que de alguma forma estão sempre me apoiando nas conquistas e me dando forças para concluir meus trabalhos de iniciação científica e a faculdade em si. O meu muito obrigado.

Referências

BARBOSA, L. C. A MALTHA, C. R. A., DEMUNER; A. J., PATRÍCIA F. PINHEIRO, VAREJÃO, J. O. S. MONTANARI, R. M., ANDRADE, N. J., Síntese e avaliação da atividade antimicrobiana de furanonas halogenadas e de compostos análogos aos nostoclídeos. *Quim. Nova*, v. 33, 10, p.2020, 2010.

CECHINEL FILHO, V.; YUNES, R. A., Estratégias para a obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais. conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Quim. Nova**, v 21, p. 99, 1998.

CUNHA, A. H. N.; VIEIRA, J. A., Detecção da bactéria echerichia coli em águas residuárias empregando sistema em fluxo por turbidimetria. **Revista Mirante**, v. 7, 2, p. 184, 2014.

FERNANDES, A.M.A.P., SANTOS, L.S., FERRI, P.H., BARATA, L.E.S., QUEIROZ, P.M., NEAL, R.A. e JOURDAN, M.C., Natural and Synthetic Bioactive Neolignans. 2nd BrazilianGermany Symposium of Natural Products, Hannover, Alemanha, 1, 1991.