

IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONOIDES EM EXTRATO VEGETAL DE *PASSIFLORA INCARNATA LINNAEUS* UTILIZANDO CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CDC)

Gabriele Von Zuben

Bacharel em Química, graduada pela UNIFACP- Centro Universitário de Paulínia

Elisangela Orlandi de Sousa Gonçalves

(Doutora e Mestre em Engenharia Química pela Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Graduação em Engenharia Química pela Escola de Engenharia de Lorena – EEL. Professora do Centro Universitário de Paulínia – UNIFACP).

RESUMO: O gênero *Passiflora* é o mais importante da família *Passifloraceae*. As espécies deste gênero são muito empregadas na indústria farmacêutica na forma de medicamento fitoterápico, principalmente devido às suas propriedades sedativas e ansiolíticas. Os flavonoides se apresentam em abundância no gênero *Passiflora*, torna-os a classe de compostos com maior interesse de estudo. Além disso, os flavonoides são responsáveis pela atividade ansiolítica apresentada por algumas espécies, sendo alguns desses flavonoides utilizados como marcadores fitoquímico. O Extrato da planta *Passiflora incarnata* L., popularmente conhecida como flor da paixão, foi analisado por cromatografia em camada delgada, utilizando-se uma placa de sílica gel com indicador de fluorescência. Foram identificados flavonoides C-glicosilados. Os resultados obtidos estão de acordo com os da literatura sobre a fitoquímica da *Passiflora incarnata* L.

Palavras-chave: *Passiflora incarnata* L., Flavonoides, cromatografia em camada delgada, CDC, extrato vegetal, fingerprint, fitoquímica.

1. INTRODUÇÃO

Há anos a humanidade utiliza as propriedades biológicas das plantas para a cura, prevenção e tratamento de doenças.

As plantas são uma importante fonte de obtenção de substâncias biologicamente ativas e o estudo da composição fitoquímica de espécies vegetais é de extrema importância para a descoberta de novos princípios ativos e o desenvolvimento de novos medicamentos, sejam eles naturais ou sintéticos (AMARAL, 2018; MULLER, 2006).

Dentre as diversas plantas com atividades farmacológicas conhecidas, destacam-se a utilização de algumas espécies do gênero *Passiflora*. A *Passiflora* possui indicação terapêutica para o tratamento da ansiedade e insônia, mas há diversos estudos que avaliam os efeitos das substâncias presentes em seus frutos e flores, como taninos, alcaloides, cumarínicos, flavanoides, tirosina e glicina, capazes de apresentar atividades antimicrobiana, antioxidante, citotóxica, anti-inflamatória, antitumoral, hemolítica, ansiolítica, anti-hipertensiva, hipnótica, sedativa e analgésica (AMARAL, 2018; KIM *et al.*, 2017).

A utilização de espécies vegetais naturais na indústria, principalmente farmacêutica, se faz cada vez mais presente. Com isso, conhecer e identificar essas substâncias envolve diretamente a participação da química.

Diversos métodos cromatográficos têm sido empregados para obtenção e avaliação qualitativa do perfil químico que compõe um extrato vegetal. O objetivo deste trabalho foi abordar a técnica de cromatografia em camada delgada, um método simples, eficaz e que vem sendo muito utilizado no controle de qualidade farmacêutico para identificação da espécie *Passiflora incarnata* Linnaeus.

Segundo Pereira (2014), dentre as espécies do gênero *Passiflora*, a *Passiflora incarnata* L., possui maior atividade sedativa. Esse efeito pode ser atribuído ao maior conteúdo de flavonoides, composto que será utilizado no presente trabalho como marcador analítico da espécie citada.

2. *Passiflora incarnata* Linnaeus

A espécie *Passiflora incarnata* L. é conhecida popularmente como maracujá vermelho ou flor da paixão. Pertence ao gênero *Passiflora* e faz parte da Família Passifloraceae (CEOLA; STEIN, 2019).

Possui ampla distribuição no globo terrestre, mas é encontrada principalmente em regiões tropicais e temperadas, sendo comumente encontrada nas Américas, Europa, Ásia e Austrália (CEOLA; STEIN, 2019; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

É uma planta rasteira perene, que se sustenta por meio de gavinhas axilares. Folhas alternadas, palmadas, com três a cinco lóbulos serrados. Flores largas, solitárias, com pedúnculos longos, esbranquiçados, com uma corola roxa e coroa rosa. Os frutos são ovais contendo numerosas sementes. As sementes são achatadas recobertas com um arilo amarelado ou amarronzado. A planta possui hastes lignificadas, verde, verde-acinzentada ou amarronzada, usualmente menor do que 5 mm de diâmetro, arredondada, longitudinalmente estriado e frequentemente oco. As folhas são alternas com sulcos, seus pecíolos são geralmente torcidos, possuindo dois nectários extraflorais no ápice, sua lâmina possui de 6-15 cm de comprimento, largas, verde a verde-acastanhado, palmadas com três a cinco lobos lanceolados cobertos com pelos finos na superfície inferior e de margem serrilhada. Gavinhas lisas, arredondadas e terminando na forma de espirais cilíndricas suportadas na axila das folhas. Flores de 5-9 cm de diâmetro com pedúnculos de até 8 cm de comprimento proveniente das axilas das folhas, possui cinco pétalas brancas alongadas, cálice com cinco sépalas grossas com superfície superior verde com uma extensão corniforme, involúcro de três brácteas pontiagudas com margens papilosas, cinco grandes estames, unidos na base e fundidos ao androginóforo, ovário superior verde-acinzentado, estilo piloso com três ramos estigmáticos alongados. Frutos de 4-5 cm de comprimento, ovais, achatados, marrom-esverdeados, contendo numerosas sementes de 4-6 mm de comprimento, 3-4 mm de largura e 2 mm de espessura, com uma superfície amarelo-acastanhado, sem caroço. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A Figura 1, apresenta os aspectos morfológicos da espécie *Passiflora incarnata* L.



Figura 1: Flor, folhas e frutos da *Passiflora Incarnata* L. (Fonte: LOPES; TIYO; ARANTES, 2017; SILVA, 2017).

Tradicionalmente, a *Passiflora incarnata* L. é utilizada para o tratamento da ansiedade e insônia, mas há diversos estudos que avaliam os efeitos das substâncias presentes em diferentes espécies do gênero *Passiflora* que apresentam atividades antimicrobiana, antioxidante, citotóxica, anti-inflamatória, antitumoral, hemolítica, ansiolítica, anti-hipertensiva, hipnótica, sedativa e analgésica (AMARAL, 2018).

O extrato seco *Passiflora incarnata* L. é obtido através das partes aéreas da planta. Segundo Dantas (2014), as raízes, flores, folhas e caules da espécie são desprovidas de efeitos ansiolíticos e atuam como adulterantes naturais, devendo ser separadas das partes aéreas.

A Figura 2, apresenta os aspectos morfológicos das partes aéreas da *Passiflora incarnata* L.



Figura 2: Partes aéreas da *Passiflora Incarnata* L. (Fonte: MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

2.1 Caracterização fitoquímica da *Passiflora incarnata* L.

Para avaliar a composição química de qualquer vegetal, é necessário compreender o metabolismo vegetal.

Metabolismo caracteriza-se pelo conjunto de reações químicas que ocorrem em um organismo vivo com o intuito de manter a vida. Há dois tipos de metabolismo vegetal: primário e secundário.

O metabolismo primário fornece substâncias como lipídeos, aminoácidos, proteínas e açúcares, essenciais para a manutenção da vida. O metabolismo secundário é derivado do metabolismo primário, e resulta de várias

reações anabólicas e catabólicas das estruturas celulares, necessárias para o crescimento e desenvolvimento, garantindo a sobrevivência e perpetuação da espécie no ecossistema (CUNHA *et al.*, 2016; SCHMIDT, 2016).

O metabolismo secundário vegetal, através das substâncias formadas no metabolismo primário, forma vários compostos orgânicos, que por sua vez possuem atividade biológica, o que permite a sua utilização terapêutica (CUNHA *et al.*, 2016).

Os metabólitos secundários são específicos de cada espécie. O gênero *Passiflora* possui importantes constituintes fitoquímicos, como carotenoides, flavonoides, glicosídeos cianogênicos, alcaloides, esteroides, lignanas, ácidos graxos, aminoácidos, derivados do ácido clorogênico e proantocianidinas (AMARAL, 2018).

Segundo Lopes (2005), os fitoconstituintes mais frequentemente encontrados nos extratos obtidos a partir das partes aéreas de *Passiflora incarnata* L. são em sua maioria flavonoides, em especial os flavonoides C-glicosilados, como: vitexina, isovitexina, orientina e isoorientina.

A Tabela 1, apresenta os principais flavonoides C-glicosilados presentes em diferentes espécies do gênero *Passiflora*.

Tabela 1: Principais flavonoides C-glicosilados presentes em diferentes espécies de *Passiflora*.

Espécie	Parte da Planta	Flavonoides C-glicosilados
<i>Passiflora incarnata</i>	Folhas	Vitexina; Isovitexina; Orientina; Isoorientina; 7-O-glicosilisoovitexina
<i>Passiflora edulis</i>	Folhas e frutos	Schaftosídeo; Isoschaftosídeo; Vitexina; Isovitexina; Orientina; Isoorientina
<i>Passiflora alata</i>	Folhas	Isovitexina; Vitexina; Orientina; Isoorientina; 2''-O-xilosil-vitexina; 2''-O-ramnosil-vitexina; 2''-O-ramnosil-escoparina; 2''-O-ramnosil-orientina
<i>Passiflora quadrangularis</i>	Folhas	2''-O-xilosilorientina; 2''-O-xilosil-vitexina; 2''-O-glicosil-vitexina

Fonte: Adaptado de COSTA, 2013.

Os flavonoides C-glicosilados são formados pela ligação açúcar-genina entre o carbono C-1 (anomérico) do açúcar e um ou dois carbonos do núcleo A do flavonoide, sempre nos carbonos 6 e/ou 8, sendo sua principal característica química a resistência a hidrólise ácida (SIMÕES *et al.*, 2017).

A Figura 3, apresenta a principal classe encontrada na espécie *Passiflora incarnata* L.: a flavona do tipo C-glicosilados.

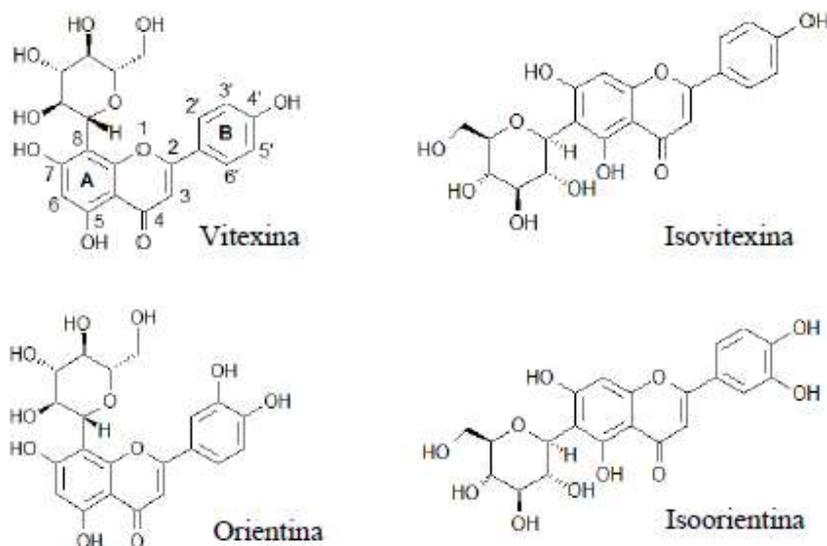


Figura 3: Principais flavonoides C-glicosilado presentes na espécie *Passiflora incarnata* L.
(Fonte: LOPES, 2005).

Os flavonoides constituem uma importante classe de polifenóis presentes entre os metabolitos secundários vegetais. Estão presentes em todas as partes da planta, com predominância nas folhas (FILHO; ZANCHETT, 2020).

Segundo Simões *et al.* (2017), uma substância fenólica ou polifenólica é caracterizada pela presença de um ou mais núcleos aromáticos contendo substituintes hidroxilados e/ou seus derivados funcionais como ésteres, éteres, glucosídeos e outros.

A maioria dos flavonoides possui 15 átomos de carbono em seu núcleo fundamental, arranjados em três anéis, sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A e que são numerados com números ordinários para os núcleos A e C, e números ordinários seguidos de uma linha (') para o núcleo B (DORNAS *et al.*, 2007; SIMÕES *et al.*, 2017).

A identificação e numeração dos núcleos fundamentais de um flavonoide, pode ser observada na Figura 4.

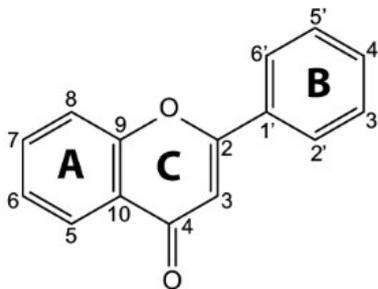


Figura 4: Núcleo fundamental dos flavanoides e sua numeração. (Fonte: SIMÕES *et al.*, 2017)

Há diversas classificações para os flavonoides: flavonas, flavonóis e seus O-heterosídeos; flavonoides C-heterosídeos; antocianos; chalconas; auronas; di-hidroflavonoides; flavanas; leucoantocianidinas; proantocianidinas; neoflavonoides; biflavonoides e isoflavonoides. A classificação é baseada no estado de oxidação e no grau de insaturação do anel heterocíclico central (anel C).

O emprego terapêutico de plantas contendo flavonoides é abundante. Isso se dá devido a suas inúmeras atividades biológicas como ação antitumoral, anti-inflamatório, antimicrobiano, antioxidantes. Sobre tudo, para a *Passiflora incarnata L.*, seu uso se dá principalmente pelas suas propriedades sedativas, antiespasmódicas e ansiolíticas (AMARAL, 2018; SIMÕES *et al.*, 2017).

2.2 Atividade Farmacológica e Toxicidade

As espécies do gênero *Passiflora* são indicadas como: ansiolítico, sedativo, tensão nervosa e insônia, diurético, anti-hipertensivo, antiarrítmico, antiespasmódico, antimicrobiano (GOSMANN *et al.*, 2011; MULLER, 2006).

Segundos Pereira (2014), há diversos compostos aos quais podem ser atribuídas a atividade farmacológica da *Passiflora incarnata L.* como os flavonoides, o maltol, os alcalóides indólicos e os glicósidos cianogénicos. Porém, apesar do grande volume de estudos existentes para o gênero *Passiflora*, ainda não está claro quais são as substâncias responsáveis pela ação central (FONSECA *et al.*, 2020; GOSMANN *et al.*, 2011).

Uma hipótese para a atividade farmacológica da planta seria a sinergia entre ácido gama-aminobutírico (GABA), de fórmula molecular de $C_4H_9NO_2$ e os flavonoides, uma vez que o GABA aumenta a permeabilidade da membrana conduzindo a uma modulação positiva, ou seja, aumento do número e a afinidade da ligação dos receptores $GABA_A$ pelos flavonoides (PEREIRA, 2014).

O GABA é um neurotransmissor inibitório majoritário do sistema nervoso central (SCN) de mamíferos, onde pode se ligar a três diferentes subtipos de receptores: $GABA_A$, $GABA_C$, estes, sendo canais de transmembrana carreadores de Cl^- , e $GABA_B$ este, um receptor tipo metabotrópico acoplado a proteínas do tipo G. O receptor $GABA_A$ apresenta cinco subunidades proteicas, formando um poro central transmembrana por onde os íons de Cl^- carregam. O sítio benzodiazepínico é expresso no complexo receptor $GABA_A$ na interface entre as subunidades alfa e gama. Desta forma, as investigações concluem que os flavonoides podem apresentar efeito ansiolítico por uma modulação positiva do canal, via outros sítios de ligação (MARTINS DE OLIVEIRA; PEREIRA DE MENEZES FILHO; PORFIRO, 2020).

A Figura 5, ilustra um receptor $GABA_A$ ($GABA_A$ érgica) com outras unidades diferentes, que seriam o $GABA \beta$ e o $GABA \gamma$

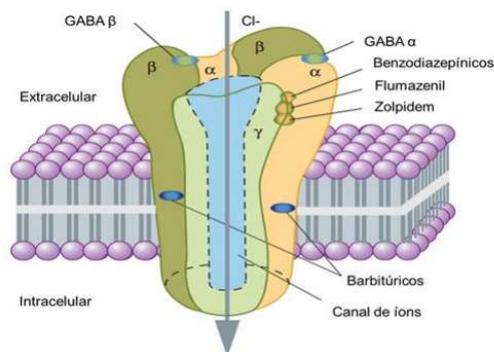


Figura 5: Representação de um receptor $GABA_A$ ($GABA_A$ érgica) com outras unidades diferentes em mesmo esquema (β e γ). (Fonte: MARTINS DE OLIVEIRA; PEREIRA DE MENEZES FILHO; PORFIRO, 2020).

Soulimani et al. (1997), investigaram o efeito ansiolítico de misturas de constituintes da *Passiflora incarnata* L. em diferentes dosagens, mas até então nenhum dos tratamentos empregados foi efetivo.

Segundo Pereira (2014), no que diz respeito à toxicidade da *Passiflora incarnata* L., esta está associada a rinite e asma mediada pela imunoglobulina (IgE). A planta é contraindicada durante a gravidez, uma vez que pode induzir contrações uterinas.

Não há casos de superdosagem reportado em humanos e os casos de hipersensibilidade verificados com a planta são raros. A administração dos seus extratos, por via peritoneal, em ratinhos não originou toxicidade aguda para doses de 500 mg por kg. A Food and Drug Administration classificou o extrato de *Passiflora incarnata* L. como sendo “*Geralmente Reconhecido como Seguro*” (PEREIRA, 2014).

Os estudos pré-clínicos e clínicos acerca da toxicidade da *Passiflora incarnata* L., ainda são bastante limitados, mas isso não descarta sua capacidade de causar efeitos secundários. A literatura retrata casos de efeitos indesejáveis advindos da administração do vegetal, onde alguns pacientes apresentaram náuseas e vômitos após ingerir doses usuais da *Passiflora incarnata* L. (SANTOS; GALINDO; QUEIROZ, 2020).

3. A CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CDC) NO CONTROLE DE QUALIDADE DE EXTRATO VEGETAIS

As plantas medicinais são utilizadas como matéria-prima para produção de extratos ou para o isolamento de substâncias naturais puras e representam cerca de 25% do total das prescrições médicas em países industrializados (AGUIAR, 2014).

Segundo Aguiar (2014), o mercado mundial de produtos farmacêuticos movimenta US\$ 320 bilhões/ano, dos quais US\$ 20 bilhões são originados de substâncias ativas de plantas. Com isso, a utilização de plantas medicinais adquire cada vez mais importância econômica.

Um dos problemas a respeito da utilização de plantas medicinais é a biopirataria. Muito se encontra sobre fraude e contaminação do material, com a finalidade de aumentar o rendimento do produto a ser vendido (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

Assim como qualquer outro medicamento, os fitoterápicos (baseado em plantas) devem comprovar sua eficácia e segurança para uso, exigindo que procedimentos de controle de qualidade sejam estabelecidos em toda a sua cadeia produtiva. Para isto, é necessário adotar medidas que garantam a autenticidade da espécie vegetal como a identificação correta da espécie, pureza

da droga vegetal, plantio, colheita, avaliação de seus princípios ativos, preparo do extrato vegetal e, finalmente, o medicamento (NAVARRO *et al.*, 2015; SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

O monitoramento da autenticidade da espécie vegetal pode ser realizado por uma substância ou o grupo de substâncias responsáveis pela atividade farmacológica presente no extrato vegetal da planta ou ainda, pode-se utilizar de substâncias referência, ou grupo delas, que sejam as mais típicas possíveis (majoritárias) na droga vegetal, providas ou não de ação farmacológica

Visando atender os critérios de eficácia e segurança de extratos vegetais, a cromatografia em camada delgada (CCD) é um método muito empregado no controle de qualidade.

A CCD é o método mais comum de análise, principalmente antes da implementação dos métodos de CLAE e CG, por ser fácil, versátil, rápido e sensível para uma caracterização prévia dos constituintes de uma droga vegetal, proporcionando análise qualitativa e semiquantitativa, indicando uma possível adulteração (SOUZA-MOREIRA; SALGADO; PIETRO, 2010).

A CCD consiste em uma técnica de separação baseada na adsorção entre sólidos e líquidos, onde a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária, ou seja, os componentes de uma amostra são separados, pois cada um interagem de forma diferente, com a fase estacionária ou fase móvel, a depender da polaridade do analito. O grau das interações entre a amostra e a fase móvel/estacionária é o que provoca um maior ou menor tempo de retenção (eluição) da amostra na placa. Com isso, os analitos que interagem mais com a fase móvel e menos com a fase estacionária eluem pela placa mais rapidamente, já os analitos que interagem mais com a fase estacionária e menos com a fase móvel, eluem de maneira mais lenta sobre a placa (DIAS *et al.*, 2016).

O método de cromatografia em camada delgada é destinado, principalmente, a análises qualitativas (HAYASHI, 2012).

Os extratos vegetais possuem um padrão de bandas exclusivo, chamado de impressões digitais cromatográficas ou “fingerprint”, que fornecem perfis cromatográficos que servem de referência para drogas vegetais compostas por diversos constituintes químicos, através das migrações

diferenciais de seus constituintes em condições de análise padronizadas (NETTO *et al.*, 2006; SOUZA, 2017).

O presente trabalho tem por finalidade a identificação de flavanoides em extrato vegetal da *Passiflora incarnata* L. por meio da análise de impressões digitais cromatográficas “fingerprint” por CCD.

4. MÉTODO

Os flavonoides encontrados em *Passiflora* são do tipo C-glicosídeo. Os flavonoides C-glicosídicos são pigmentos polifenólicos abundantes em plantas, que possuem atividade biológica e são de interesse quimiotaxonômico (LOPES; TIYO; ARANTES, 2017).

Segundo Lopes (2005), do ponto de vista químico, flavonoides C-glicosilados são ácidos fracos de natureza polar, ou moderadamente polar e, portanto, são solúveis em solventes como etanol, metanol, butanol e combinações destes solventes com água.

Estas substâncias são também frequentemente usadas como “marcadores” na análise de medicamentos fitoterápicos. Nos flavonoides C-glicosídeos, os açúcares estão diretamente ligados ao núcleo aromático por uma ligação carbono-carbono, resistente à hidrólise. Estes açúcares ligados diretamente a carbonos são encontrados apenas nas posições 6 e 8 do núcleo dos flavonoides e apresentam pouca diversificação, dentre os quais o principal é a glicose (LOPES; TIYO; ARANTES, 2017).

O extrato vegetal de *Passiflora incarnata* L., do fabricante Finzelberg (Lote: 2005478 – Validade: 04/06/2022) foi analisado por CCD, de acordo com o orientado na monografia Passionflower Herb Dry Extract da Farmacopeia Europeia (EP) – Volume 10.3.

Para isto, utilizando-se uma cromatoplaça de sílica gel 60 F254 (Merck® - lote HX74021254) como fase estacionária. Aplicou-se alíquotas de 4 µL das soluções referência A, referência B, referência C, amostra e padrões de homorientina, orientina e isovitexina, sobre a placa cromatográfica com o auxílio de micro seringa, na forma de bandas de aproximadamente 8 mm. A Tabela 2, apresenta os detalhes dos padrões utilizados.

Tabela 2: Fabricante, lote, pureza e validade dos padrões utilizados

Padrões	Fabricante	Lote	Pureza	Validade
Homorientina	ChromaDex	00008321-023	90,9%	01/2023
Isovitexina	ChromaDex	00009630-617	88,8%	06/2022
Orientina	ChromaDex	00015380-404	97,9%	01/2022

Fonte: autoria própria

Aguardou-se os pontos de aplicação secarem e levou-se a placa à cuba para cromatografia, previamente saturada contendo a fase móvel constituída de Ácido Fórmico Anidro:Água Mili-Q:Metil-Etil-Cetona:Acetato de Etila (10:10:30:50 v/v/v/v). A Tabela 3, apresenta os detalhes dos reagentes utilizados.

Tabela 3. Fabricante, lote e validade dos reagentes utilizados.

Reagentes	Fabricante	Lote	Validade
2-aminoetildifenilborato P.A.	Merck	S7390936	31/03/2022
Acetato de etila P.A.	Exôdo	1908234067	28/08/2025
Ácido fórmico Anidro P.A.	Neon	46981	01/11/2021
Metanol grau HPLC	Merck	I11116807	31/08/2023
Metil-Etil-Cetona P.A.	Merck	K48330908	30/09/2021
Macrogol 400	Polioles	70359	17/12/2021

Fonte: autoria própria

A Figura 6, apresenta um esquema da cromatografia em camada delgada. Onde a amostra é aplicada em bandas, na parte superior da placa, com o auxílio de uma micro seringa. A placa é então, cuidadosamente posicionada dentro da cuba cromatográfica, previamente saturada com a fase móvel a ser utilizada. A fase móvel irá percorrer a placa e à medida que caminha, irá arrastar os componentes presente na amostra, separando-os.

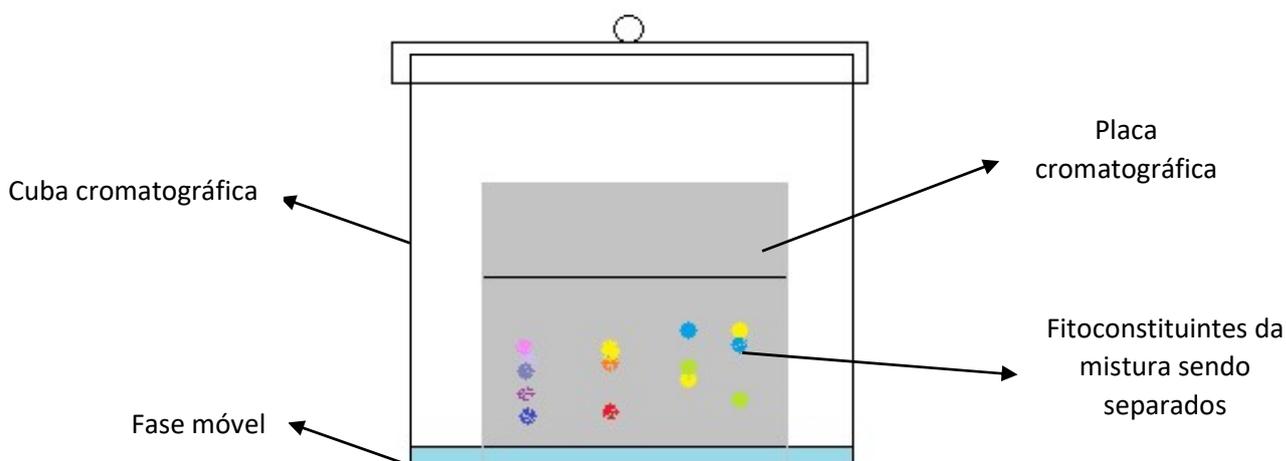


Figura 6: Esquema da cromatografia em camada delgada.

Desenvolveu-se o cromatograma por 7 cm a contar da zona de aplicação das soluções na placa cromatográfica. Removeu-se a placa da cuba e deixou-se secar sob fluxo de ar corrente e em seguida, levou-se para estufa a 105°C por 5 minutos. Após a secagem, com a placa ainda quente, nebulizou-se a solução relevadora constituída de 2-Aminoetildifenil Borato 1% em metanol, e em seguida, nebulizou-se a solução relevadora constituída de macrogol 5% em metanol. Deixou-se secar sob fluxo de ar corrente por 1 minuto e observou-se em cabine escura, sob luz ultravioleta em comprimento de onda 366 nm para visualização das bandas. A Tabela 4, detalha os equipamentos utilizados.

Tabela 4: Relação de equipamentos, marca e validade de calibração dos equipamentos utilizados.

Equipamentos	Marca	Validade de calibração
Balança analítica	Mettler Toledo	10/2021
Banho ultrassônico	Elma	07/2022
Pipetador	Brand	08/2022
Estufa	Tecnal	10/2021
Camãra Escura	Boitton	NA

Fonte: autoria própria

A Tabela 5, apresenta a sequência de zonas fluorescentes que caracterizam o extrato vegetal da *Passiflora incarnata* L.

Tabela 5: Sequência de zonas fluorescentes que caracterizam o extrato vegetal da *Passiflora incarnata* L.

Parte superior da placa		
Isovitexina: uma zona verde ou azul esverdeada	Uma zona verde ou azul-esverdeada, fraca para equivalente	Uma zona verde ou azul-esverdeada, fraca para equivalente
	Uma zona amarela, tênue ao equivalente	Uma zona amarela, muito fraca a fraca
Homorientina: uma zona amarela	Uma zona verde ou azul-esverdeada, fraca para equivalente (isovitexina)	Uma zona verde-azulada (swertisina)
	Uma zona amarela, tênue ao equivalente (homorientina)	Uma zona amarela, tênue ao equivalente (homorientina)
Solução Referência A	Uma zona verde ou azul esverdeada, muito fraca a fraca	Uma zona verde ou azul esverdeada, muito fraca a fraca
	Solução Amostra (Tipo Isovitexina)	Solução Amostra (Tipo Swertisina)

Fonte: ADAPTADO *Passiflora Herb Dry Extract*, Farmacopeia Europeia - EP 10.3

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

A cromatoplaça foi desenvolvida da seguinte maneira:

- Coluna 1 – Padrão de Isovitexina;
- Coluna 2 – Padrão de Orientina;
- Coluna 3 – Padrão de Homorientina;
- Coluna 4 – Solução Referência A: contendo Homorientina e Isovitexina na concentração de 0,15 mg/mL;
- Coluna 5 – Solução Referência B: contendo Homorientina e Isovitexina na concentração de 0,0375 mg/mL;
- Coluna 6 – Solução Referência C (System Suitability): contendo Isovitexina e Orientina na concentração de 0,15 mg/mL;
- Coluna 7 – Solução amostra.

A Figura 7, apresenta a cromatoplaca obtida experimentalmente, com a sequência de zonas/bandas fluorescentes que caracterizam o extrato vegetal da *Passiflora incarnata* L, segundo a monografia da Farmacopeia Europeia (EP).

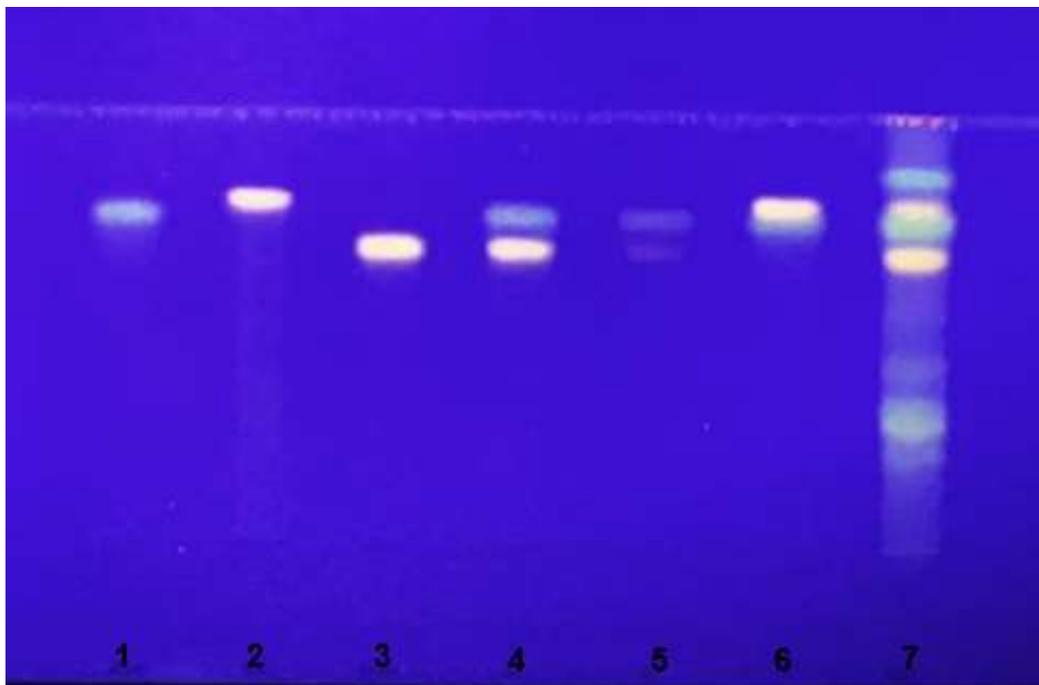


Figura 7: Cromatoplaca com desenvolvimento das soluções referências e amostra.

Aplicou-se a solução Padrão de Isovitexina (Coluna 1), solução Padrão de Orientina (Coluna 2) e solução Padrão de Homorientina (Coluna 3), separadamente, para ter certeza da identidade, bem como as colorações das bandas fluorescentes que deveriam ser observadas para cada composto.

A Monografia da EP indica que os marcadores de intensidade são a homorientina (Coluna 3), com zona fluorescente amarelo e a isovitexina (Coluna 1), com zona fluorescente verde ou azul esverdeado.

Ao comparar as bandas obtidas no extrato vegetal da *Passiflora incarnata* L. (Coluna 7) versus a solução referência A (Coluna 4), pode-se constatar que de fato a amostra apresenta os chamados “fingerprint” para esta espécie.

A solução referência B (Coluna 5) é uma solução derivada da A, em menor concentração. Está solução foi aplicada com o intuito de determinar o limite de detecção dos flavonoides em questão, na amostra. Já a solução referência C (Coluna 6) foi aplicada para garantir que todo o sistema

cromatográfico foi preparado de maneira correta, ou seja, a proporção de fase móvel e saturação da cuba cromatográfica, estavam adequadas para que se ocorra uma separação adequada.

6. CONCLUSÃO

A utilização de extratos vegetais para produção de medicamentos fitoterápicos é uma realidade há anos nas indústrias farmacêuticas. Um dos problemas que assola a utilização de plantas medicinais é a biopirataria. Assim como qualquer outro medicamento, os fitoterápicos devem comprovar sua eficácia e segurança para uso. Com isso, faz-se necessário o monitoramento de toda a cadeia produtiva, desde a aquisição do extrato vegetal até o produto final.

A cromatografia em camada delgada é um método muito empregado e um aliado no controle de qualidade desse tipo de matéria-prima. Por ser um método fácil, versátil e rápido, é muito utilizado para uma caracterização prévia dos constituintes de uma droga vegetal e permite uma identificação correta da espécie recebida.

Vale ressaltar que o controle de qualidade de uma espécie vegetal, não se limita somente a técnica de CDC. Também são empregadas técnicas de cromatografia líquida, cromatografia gasosa, espectroscopia de infravermelho e diversos outros equipamentos e testes como o objetivo de identificar, quantificar teor e impurezas e realizar outros testes como perda por secagem, cinzas totais, testes microbiológicos, dentre outros, que são descritos em metodologia farmacopeicas ou formulários oficiais reconhecidos pela ANVISA.

Além disso, observa-se que a CDC vem sendo substituída pela técnica de HPTLC (High-performance thin-layer chromatography) que é uma forma aprimorada de cromatografia de camada delgada, onde se substitui a cuba cromatográfica e aplicações de bandas manuais, por um equipamento capaz de controlar diversos parâmetros como umidade e saturação, além de possuir injeção automatizada, o que melhora a resolução e separação dos fitoconstituintes e permite obter melhor qualidade de imagem.

Este trabalho, teve por objetivo principal apresentar a técnica de cromatografia em camada delgada, bem como apresentar a sua importância no

controle de qualidade de extratos vegetais, em especial do extrato da *Passiflora incarnata* L. Além disso, forneceu-se um levantamento bibliográfico sobre a sua atividade farmacológica e toxicidade, apresentando-se os principais constituintes da espécie *Passiflora incarnata* L.

Pode-se concluir que o objetivo deste trabalho foi alcançado e que a identificação dos fitoconstituintes (fingerprint) do extrato da *Passiflora incarnata* L., foram bem desenvolvidos e contribuíram para uma boa aprendizagem sobre a técnica analítica utilizada, bem como um conhecimento na área de produtos naturais.

REFERENCIAS

SOULIMANI, R., YOUNOS, C., JARMOUNI, S., BOUSTA, D., MISS-LIN, R. & MORTIER, F. 1997. Behavioural effects of *Passiflora incarnata* L. and its indole alkaloid and flavonoid derivatives and maltol in the mouse. *Journal of Ethnopharmacology*, 57: 11-20.

AGUIAR, José Luiz Neves de. **CONTRIBUIÇÕES PARA A AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS MEDICAMENTOS FITOTERÁPICOS NO BRASIL**. 218 f. 2014. - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, [s. l.], 2014.

AMARAL, Juliano Geraldo. ***Passiflora* L . (Passifloraceae): estudos fitoquímicos suportados no desenvolvimento de estratégias de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas**. 226 f. 2018. [s. l.], 2018.

CEOLA, Gessiane; STEIN, Tiago Ronei. **Botânica Sistemática**. Porto Alegre: SAGAH, 2019.

CUNHA, Amanda Lima *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 175, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i2.332>

DANTAS, LILIANE POCONÉ. **Efeitos da Passiflora incarnata e do midazolam no controle da ansiedade em pacientes submetidos à exodontia de terceiros molares inclusos**. 2014. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, [s. l.], 2014. Disponível em: <https://bdtd.ufs.br/handle/tede/2986>

DIAS, SILVIO LUIS PEREIRA; VAGHETTI, Júlio César Pacheco; LIMA, Éder Cláudio;; BRASIL, JORGE DE LIMA; PAVAN, Flávio André. **Química Analítica - Teoria e Prática Essenciais**. Porto Alegre: Bookman, 2016.

DORNAS, W.C *et al.* Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, [s. l.], p. 241–249, 2007.

FILHO, Valdir Cechinel; ZANCHETT, Camile Cecconi Cechinel. **Fitoterapia avançada: uma abordagem química, biológica e nutricional**. 1. ed. Porto Alegre: Grupo a Educação SA, 2020.

GOSMANN, Grace *et al.* Composição química e aspectos farmacológicos de espécies de Passiflora L. (Passifloraceae). **Revista Brasileira de Biociências**, [s. l.], p. 88–99, 2011.

HAYASHI, S. S. **Determinação qualitativa e quantitativa de metabólitos secundários de Malva sylvestris em extratos e especialidades farmacêuticas**. 121 f. 2012. [s. l.], 2012.

KIM, Mijin *et al.* Role Identification of *Passiflora Incarnata* Linnaeus: A Mini Review. **Journal of Menopausal Medicine**, [s. l.], v. 23, n. 3, p. 156, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.6118/jmm.2017.23.3.156>

LOPES, ANDREIA CRISTINA WILDNER CAMPOS. **DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA EXTRATO DE *Passiflora incarnata* Linnaeus**. 183 f. 2005. [s. l.], 2005.

LOPES, Mayke Willian; TIYO, Rogério; ARANTES, Vinicius Pereira. Utilização Da *Passiflora Incarnata* L. No Tratamento Da Ansiedade. **Revista UNINGÁ Review**, [s. l.], v. 29, p. 81–86, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.22533/at.ed.90019240762>

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Saúde. **MONOGRAFIA DA ESPÉCIE *Passiflora incarnata* LINNAEUS**. [S. l.]: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <https://e-jmm.org/DOIx.php?id=10.6118/jmm.2017.23.3.156>

MULLER, Simony Davet. **Determinação de alcalóides e flavonóides através de CLAE e UV de extratos de *Passiflora alata* Curtis, Passifloraceae - Maracujá-doce**. 91 f. 2006. [s. l.], 2006.

NAVARRO, Fernanda Flores *et al.* Controle de Qualidade e triagem fitoquímica da droga vegetal das folhas de *Morus nigra* L. (MORACEAE). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences Rev Ciênc Farm Básica Apl**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 259–265, 2015. Disponível em: <http://seer.fcfar.unesp.br/rcfba/index.php/rcfba/article/viewFile/240/144>

NETTO, E. M. *et al.* Comentários sobre o Registro de Fitoterápicos. **Revista Fitos**, [s. l.], v. 1, n. 3, 2006.

PEREIRA, Sónia Maria Tavares. **O Uso Medicinal da Passiflora incarnata L.** 1–25 f. 2014. [s. l.], 2014.

SANTOS, Ana Paula Medeiros; GALINDO, Arle Santos; QUEIROZ, Evandro de Souza. Propriedades neuropsicofarmacológicas, compostos quimicamente ativos e uso medicinal da passiflora incarnata. **Brazilian Journal of Development**, [s. l.], v. 6, n. 12, p. 94823–94836, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.34117/bjdv6n12-098>

SCHMIDT, Marcella Emília Petra. **ESTUDO DA DISTRIBUIÇÃO DE COMPOSTOS TRITERPÊNICOS POR HPLC-UV EM ESPÉCIES DE Cecropia E Bauhinia.** 69 f. 2016. [s. l.], 2016.

SILVA, Matheus Henrique Reis da. **FUNGOS ENDOFÍTICOS ASSOCIADOS à Passiflora incarnata E AVALIAÇÃO DE SEU POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO.** 2017. - Universidade Estadual Paulista, [s. l.], 2017.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira; *et al.* **Farmacognosia - Do Produto Natural ao Medicamento.** [S. l.: s. n.], 2017.

SOUZA-MOREIRA, Tatiana M.; SALGADO, Hérica R. N.; PIETRO, Rosemeire C. L. R. O Brasil no contexto de controle de qualidade de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 435–440, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010000300023>

SOUZA, Julia Aparecida Lourenço de. **CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA E CROMATOGRÁFICA DE DROGAS VEGETAIS DE USO TRADICIONAL NO NORDESTE BRASILEIRO**. 112 f. 2017. [s. l.], 2017.

COSTA, GEISON MODESTI. **ESTUDO QUÍMICO DE ESPÉCIES BRASILEIRAS E COLOMBIANAS DO GÊNERO Passiflora**. 1–291 f. 2013. - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA, [s. l.], 2013.

CUNHA, Amanda Lima *et al.* Os metabólitos secundários e sua importância para o organismo. **Diversitas Journal**, [s. l.], v. 1, n. 2, p. 175, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.17648/diversitas-journal-v1i2.332>

FONSECA, Lyca R.da *et al.* Herbal Medicinal Products from Passiflora for Anxiety: An Unexploited Potential. **Scientific World Journal**, [s. l.], v. 2020, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2020/6598434>

MARTINS DE OLIVEIRA, Lucas; PEREIRA DE MENEZES FILHO, Antonio Carlos; PORFIRO, Cinthia Alves. Uso da Passiflora incarnata L. no tratamento alternativo do transtorno de ansiedade generalizada. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 9, n. 11, p. e2349119487, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i11.9487>