

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CRISTIANE DA SILVA PAULA



CURITIBA
2014

CRISTIANE DA SILVA PAULA

ESTUDO FITOQUÍMICO E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE
***Bauhinia unguolata* L., Fabaceae**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Dra. Marilis D. Miguel

Co-orientador: Dr. Obdulio G. Miguel

CURITIBA
2014

Paula, Cristiane da Silva

Estudo fitoquímico e propriedades biológicas das folhas de *Bauhinia unguolata* L., Fabaceae / Cristiane da Silva Paula – Curitiba, 2014.
227 f. : il. (algumas color.) ; 30 cm

Orientadora: Professora Dra. Marilis Dallarmi Miguel

Coorientador: Professor Dr. Obdulio Gomes Miguel

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas,
Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2014.

Inclui bibliografia

1. *Bauhinia unguolata*. 2. Astilbina. 3. Engeletina. 4. Afzelina. I. Miguel, Marilis Dallarmi. II. Miguel, Obdulio Gomes. III. Universidade Federal do Paraná.
IV. Título.

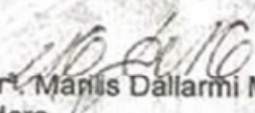
CDD 615.32

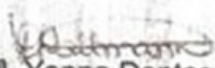
TERMO DE APROVAÇÃO

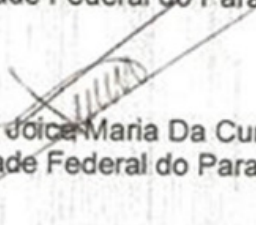
CRISTIANE DA SILVA PAULA

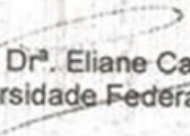
Título: "ESTUDO FITOQUÍMICO E PROPRIEDADES BIOLÓGICAS DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L., Fabaceae"

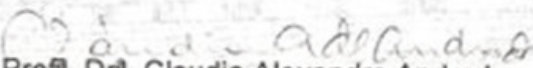
Tese aprovada como requisito parcial para a obtenção de grau de Doutor, no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Paraná, área de concentração: Insumos, medicamentos e correlatos.


Prof.^a. Dr.^a. Marlis Dallarmi Miguel
Orientadora


Prof.^a. Dr.^a. Yanna Dantas Rattmann
Universidade Federal do Paraná


Prof.^a. Dr.^a. Joice Maria Da Cunha
Universidade Federal do Paraná


Prof.^a. Dr.^a. Eliane Carneiro Gomes
Universidade Federal do Paraná


Prof.^a. Dr.^a. Claudia Alexandra Andrade
Faculdades Integradas do Brasil

Curitiba, 17 de julho de 2014.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, sempre presente nas horas mais difíceis me dando forças para entender as dificuldades e superá-las. Iluminou-me quando tudo escureceu e me insuflou a alma de serenidade e sabedoria sempre que precisei.

A meus pais, meu marido e familiares, pelo grande apoio em todos os momentos de minha vida e por todos os seus ensinamentos.

À Universidade Federal do Paraná, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas pela oportunidade de realizar este trabalho.

A Dra. Marilis Dallarmi Miguel e Dr. Obdúlio Gomes Miguel, pela orientação, dedicação, confiança e paciência nesses seis últimos anos, desde o mestrado.

A todos os professores do programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, pelos ensinamentos científicos e lições de vida.

À Profa. Dra. Ana Luiza Lacava Lordello, Profa. Dra. Joice Cunha e ao Prof. Dr. Paulo Roberto Wunder pela parceria, excelente acolhimento e ensinamentos que foram muito importantes para o resultado final deste trabalho.

Ao Departamento de Química e Bioquímica da UFPR, equipe do RMN do *Institut de Chimie de Substances Naturelles* e Prof Dr Didier Stien, de Gif-sur-Yvette, da França pela realização dos RMNs.

Ao Departamento de Farmacologia da UFPR pelo acolhimento e possibilidade de realização dos experimentos “*in vivo*” e ao Biotério do setor de Ciências Biológicas da UFPR pelo fornecimento dos animais.

À Professora Dra. Daniela de Almeida Cabrini e a mestranda Bruna Soley pela realização dos ensaios da mieloperoxidase.

À Profa Dra Christiane Pienna Soares, Prof Dr Iguatemy Lourenço Brunetti e a doutoranda Thaís Moreira da pós graduação em "Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia" da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Departamento de Análises Clínicas, pela oportunidade de realização dos experimentos de citotoxicidade.

Aos amigos Ana Flávia Schvabe Duarte, Ângela Souza, Cristiane Bezerra da Silva, Cristina Mayumi Miyazaki, Daniela Maria Soares de Oliveira, Fernanda Maria Marins Ocampos, Gislene Mari Fujiwara, Laura Lúcia Cogo, Luciane Dalarmi, Maria Christina Verdam, Maria Fernanda Arruda, Mariana Saragioto Krause, Marileda Zucheto, Milena Kalegari, Pedro Zanin, Ranieri Campos, Vanessa Cantelli, Vinícius Bednarczuk de Oliveira, Profa. Dra. Josiane de Fátima Gaspari Dias, Profa. Dra. Sandra Zanin, Prof. Dr. Vitor Alberto Kerber, que de diversas formas contribuíram para a realização deste trabalho.

A Professora. Dra. Janaina Menezes Zanoveli, alunos de doutorado, mestrado e IC do departamento de farmacologia da UFPR que em várias situações nos socorreram auxiliando nos experimentos.

As alunas de IC Ayla Jacomel Kowalczuk Ferreira e Letícia Milani pelo auxílio nos experimentos da Imunologia.

Ao Paulo Diniz do laboratório de farmacotécnica pelo apoio e disponibilidade constante e a Maria da Graça da Central Analítica sempre simpática e amiga, pelo grande apoio técnico, auxiliando em todas as necessidades.

Agradeço também a CAPES/REUNI pelo suporte financeiro e bolsa de estudo.

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo realizar o estudo fitoquímico e biológico do extrato etanólico, frações e compostos isolados provenientes das folhas de *Bauhinia unguolata* L. (Fabaceae). As folhas secas foram submetidas aos ensaios farmacopeicos de determinação de água e cinzas totais. Extrato aquoso e etanólico foram submetidos a análise fitoquímica preliminar. O extrato etanólico foi particionado obtendo-se as frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e residual. A fração acetato de etila foi submetida à cromatografia em coluna e cromatografia líquida de alta eficiência e compostos isolados foram identificados por ressonância magnética nuclear. O extrato etanólico e frações foram submetidos aos ensaios de toxicidade frente a *Artemia salina*; atividade hemolítica; doseamento de fenóis totais pelo método de Folin Ciocalteou; às atividades antioxidantes pelos métodos de fosfomolibdênio, DPPH e TBARS; alelopática determinado interferência das amostras sobre germinação, crescimento, conteúdo de clorofila e respiração, utilizando com espécies alvo a *Lactuca sativa* e *Alium cepa* e antibacteriana por meio de concentração inibitória mínima. O extrato etanólico foi submetido a ensaios farmacológicos de nocicepção induzida pela formalina, contorções abdominais induzidas por ácido acético, teste da placa quente, edema de pata induzido por carragenina, medida da atividade enzimática da mieloperoxidase e análise histológica e campo aberto em *modelos in vivo*. Os compostos isolados foram submetidos aos ensaios imunológicos utilizando neutrófilos humanos e de citotoxicidade por redução do MTT frente a linhagem celular SiHa de câncer de cólo de útero. Os resultados das análises farmacopeicas demonstraram que o material utilizado no estudo encontra-se dentro dos parâmetros estabelecidos. Na análise fitoquímica preliminar foram detectados alguns grupamentos que serviram de guias para o isolamento principalmente de flavonoides. Da fração acetato de etila foram isolados os compostos astilbina, quercetina, engeletina, afzelina e canferol. Nos ensaios biológicos não foram observadas toxicidade sobre a *Artemia salina* e hemolítica nos modelos testados. Com relação ao teor de fenóis totais todas as amostras possuem estes compostos em sua constituição com destaque para FAE que apresentou teores elevados. Com relação a atividade antioxidante no ensaio do fosfomolibdênio, DPPH e TBARS destacou-se a FAE com resultados semelhantes aos padrões utilizados. No ensaio alelopático as amostras demonstraram potencial fitotóxico variáveis nas duas espécies utilizadas como alvo influenciando os parâmetros avaliados. Não foi observada atividade antibacteriana das amostras frente as bactérias testadas. O extrato etanólico apresentou atividade antinociceptiva e anti-inflamatória frente aos modelos utilizados. Os isolados quercetina, engeletina e canferol mostraram-se ativadores de neutrófilos. Os compostos isolados não apresentaram citotoxicidade frente as células da linhagem SiHA nas concentrações utilizadas. Os resultados revelam atividade antioxidante, alelopática, antinociceptiva, anti-inflamatória do extrato e imunossupressora de compostos das folhas de *Bauhinia unguolata*.

Palavras-chave: *Bauhinia unguolata*. Astilbina. Engeletina. Afzelina.

ABSTRACT

This work aimed to carry out the phytochemical and biological studies of the extract ethanolic, fractions and isolated compounds from the leaves of *Bauhinia unguolata* L. (Fabaceae). The dried leaves were subjected to pharmacopoeial tests to determine water and ashes. Aqueous and ethanolic extract were subjected to preliminary phytochemical analysis. The ethanol extract was partitioned obtaining the fractions hexane, chloroform, ethyl acetate and the remaining residual. The ethyl acetate fraction was subjected to column chromatography and high performance liquid chromatography and isolated compounds identified by nuclear magnetic resonance. The ethanolic extract and fractions were subjected to testing for toxicity against *Artemia salina*; hemolytic activity; determination of total phenols by Folin Ciocalteou, the antioxidant activities by methods phosphomolybdenum, DPPH and TBARS; allelopathic interference of samples given on germination, growth, chlorophyll content and respiration using to target the species *Lactuca sativa* and *Allium cepa* and antibacterial by minimum inhibitory concentration. The ethanol extract was subjected to pharmacological testing of nociception formalin-induced and writhing induced by acetic acid, hot plate test, paw edema induced by carrageenan, measure the enzymatic activity of myeloperoxidase, histological analysis and open field in models in vivo. The isolated compounds were tested for immunological assays using human neutrophils and cytotoxicity by MTT reduction compared to SiHa cell line of cervical cancer. The results for pharmacopoeial analysis showed that the material used in the study are within established parameters. Preliminary phytochemical analysis of some groups that served as guides for the isolation of mainly flavonoides were detected. The ethyl acetate fraction were isolated astilbin, quercetin, engeletin, afzelin and kaempferol. In biological tests on the *Artemia salina* and hemolytic activity models the samples showed no activity. With respect to total phenols all specimens contain these compounds in their constitution highlighting EAF that presented high levels. Regarding the antioxidant activity in the phosphomolybdenum, DPPH and TBARS assay the EAF was similar to standard. In allelopathic test samples demonstrated phytotoxic potential variables in the two species used as target with influence in all parameters evaluated. No antibacterial activity was observed across the bacteria samples tested. The ethanolic extract showed antinociceptive and anti-inflammatory activity against the tested models. The quercetin, engeletin and kaempferol isolates demonstrated activators of neutrophils. All compounds showed no cytotoxicity front SiHa cells line at the concentrations used. The results reveal antioxidant activity, allelopathic, antinociceptive, anti-inflammatory of extract and immunosuppressive by compounds from the leaves of *Bauhinia unguolata*.

Keywords: *Bauhinia unguolata*. Astilbin. Engeletin. Afzelin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

QUADRO 1 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.	38
FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE <i>Bauhinia unguolata</i> L.	39
FIGURA 2 – FOLHA BILOBADA DE <i>Bauhinia unguolata</i> L., FACE ABAXIAL.	40
FIGURA 3 - <i>Bauhinia unguolata</i> var. <i>ungulata</i>	41
FIGURA 4 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	42
FIGURA 5 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES.....	44
FIGURA 6 – DIVISÃO DOS FLAVONOIDES DE ACORDO COM A ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA.....	45
FIGURA 7 - <i>Bauhinia unguolata</i> L. NO LOCAL DA COLETA.....	49
FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DAS FASES DA PESQUISA COM <i>Bauhinia unguolata</i> L..	50
FIGURA 9 – CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA	88
FIGURA 10 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (200,13 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU2.....	90
FIGURA 11 – ESPECTRO DE RMN de ¹³ C (50,32 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU2.....	90
FIGURA 12 – ESTRUTURA QUÍMICA DA ASTILBINA	91
FIGURA 13 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (400,13 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU3A	98
FIGURA 14 – ESPECTRO DE RMN de ¹³ C (100,61 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU3A	98
FIGURA 15 – ESTRUTURA QUÍMICA DA QUERCETINA	99
FIGURA 16 - ESPECTRO DE RMN DE ¹ H (200,13 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU4.....	104
FIGURA 17 – ESPECTRO DE RMN de ¹³ C (50,32 MHz, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU4.....	104
FIGURA 18 – ESTRUTURA QUÍMICA DA ENGELETINA	105

FIGURA 19– ESPECTRO DE RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU5	108
FIGURA 20 – MAPA DE CORRELAÇÃO HETERONUCLEAR (HSQC) UTILIZADA PARA O COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD_3OD)	109
FIGURA 21 – MAPA DE CORRELAÇÃO HETERONUCLEAR DE MÚLTIPLAS LIGAÇÕES (HMBC) UTILIZADA PARA O COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD_3OD)....	109
FIGURA 22 – MAPA DE CORRELAÇÃO HOMONUCLEAR COSY DO COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD_3OD)	110
FIGURA 23 – ESTRUTURA QUÍMICA DA AFZELINA.....	112
FIGURA 24 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU6.....	114
FIGURA 25 – ESPECTRO DE RMN de ^{13}C (50,32 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU6.....	115
FIGURA 26 – ESTRUTURA QUÍMICA DO CANFEROL.....	115
FIGURA 27 - ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE <i>L. sativa</i> (ALFACE) E <i>Allium cepa</i> (CEBOLA) SUBMETIDA A AMOSTRAS DE <i>B. unguolata</i> AO ENSAIO ALELOPÁTICO.	127
FIGURA 28 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DE <i>L. sativa</i> E RADÍCULA E COLEÓTILO DE <i>A. cepa</i> SUBMETIDOS A AMOSTRAS DE <i>B. unguolata</i> PELO ENSAIO ALELOPÁTICO.	132
FIGURA 29- TEOR DE CLOROFILA TOTAL E RESPIRAÇÃO DE <i>L. sativa</i> E <i>A. cepa</i> SUBMETIDAS AO EB, FH, FCL, FAE E FR DE <i>B. unguolata</i>	135
FIGURA 30 – EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA – FASE 1.....	139
FIGURA 31 – EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA – FASE 2.....	140
FIGURA 32 - EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDA POR FORMALINA – FLINCHES TOTAIS.....	141
FIGURA 33 - EFEITO DO EB NAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS EM CAMUNDONGOS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO.	143

FIGURA 34 – EFEITO DO EB SOBRE O EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA.....	145
FIGURA 35 - EFEITO DO EB E DEXAMETASONA (DEXA) ADMINISTRADOS POR VIA INTRAPERITONEAL SOBRE O AUMENTO DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE INDUZIDO PELA CARRAGENINA.	147
.FIGURA 37 - EFEITO DO EB E DEXAMETASONA SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA INDUZIDA PELA APLICAÇÃO DE CARRAGENINA.	150
FIGURA 38 - EFEITO DO EB SOBRE O PARÂMETRO COMPORTAMENTAL FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO NO TESTE DO CAMPO ABERTO.	152
FIGURA 39 – NEUTRÓFILOS ISOLADOS.....	153
FIGURA 40 - ENSAIO DE CITOTOXICIDADE (MTT). PORCENTAGEM DE CÉLULAS VIÁVEIS NA LINHAGENS SIHA (HPV16)TRATADAS COM ASTILBINA (A), QUERCETINA (B), ENGELETINA (C) E CANFEROL (D).....	156

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- ATIVIDADES BIOLÓGICAS DESCRITAS EM ESTUDOS COM PLANTAS DO GÊNERO <i>BAUHINIA</i>	15
TABELA 2 - COMPOSTOS ENCONTRADOS EM ESPÉCIES DO GÊNERO <i>Bauhinia</i>	22
TABELA 3 – ESQUEMA DA DILUIÇÃO EM SÉRIE DA AMOSTRA	63
TABELA 4 - MEIO REACIONAL DO ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS	64
TABELA 5 – RESULTADOS DOS ENSAIOS FITOQUÍMICOS PARA AS FRAÇÕES DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO 20% OBTIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	83
TABELA 6 - RESULTADOS DOS ENSAIOS FITOQUÍMICOS COM O EXTRATO AQUOSO OBTIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.	85
TABELA 7 – RENDIMENTO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L. ...	86
TABELA 8 – RENDIMENTO DAS FRAÇÕES OBTIDAS DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.	87
TABELA 9 – RENDIMENTO DOS COMPOSTOS ISOLADOS DA FAE OBTIDA DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i>	89
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ¹³ C E ¹ H (50,32 MHZ, 200,13 MHZ, CD ₃ OD) DO COMPOSTO BAU2 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA ASTILBINA.....	92
TABELA 11 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ¹³ C E ¹ H (400,13 MHZ, 100,61 MHZ, PPM, CD ₃ OD) DA SUBSTÂNCIA BAU3A COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA QUERCETINA.....	100
TABELA 12 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ¹³ C E ¹ H (200,13 MHZ, 50,32 MHZ, PPM, CD ₃ OD) DA SUBSTÂNCIA BAU4 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA ENGELETINA.....	106
TABELA 13 – DADOS DE RMN DE ¹ H (500 MHZ, CD ₃ OD) PARA BAU5.....	111

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ¹³ C e ¹ H (50,3 MHZ, 200,13 MHZ, CD ₃ OD) DA SUBSTÂNCIA BAU6 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA CANFEROL.....	116
TABELA 15 – MORTALIDADE DE <i>Artemia salina</i> E CL ₅₀ UTILIZANDO O EXTRATO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	118
TABELA 16 - QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS (EQUIVALENTE EM... 120 ÁCIDO GÁLICO - EAG) NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDOS DE <i>Bauhinia unguolata</i> PELO TESTE DE FOLIN-CIOCALTEU	120
TABELA 17 - RESULTADOS DO ENSAIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L. PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO	122
TABELA 18 - RESULTADOS DE Cl ₅₀ PARA A REDUÇÃO DO DPPH* DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.	124
TABELA 19 - REDUÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA PROMOVIDA PELO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDOS DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	125
TABELA 20- ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO (%G) DAS SEMENTES DE <i>L. sativa</i> (ALFACE) E <i>A. cepa</i> (CEBOLA) FRENTE AO EXTRATO E FRAÇÕES DE <i>Bauhinia unguolata</i>	127
TABELA 21 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DE SEMENTES DE <i>L. sativa</i> (alface) e <i>A. cepa</i> (cebola) SUBMETIDAS AOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS E CAULES DA <i>Bauhinia unguolata</i> E MASSA SECA.....	129
TABELA 22 – CONTEÚDO DE CLOROFILA TOTAL DAS FOLHAS E RESPIRAÇÃO DAS RAÍZES DE ALFACE E CEBOLA SOB TRATAMENTO COM EXTRATO E FRAÇÕES DE <i>Bauhinia unguolata</i>	133
TABELA 23 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E FRAÇÕES DE <i>Bauhinia unguolata</i> AVALIADO A PARTIR DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO	136
TABELA 24 – ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EB DE <i>Bauhinia unguolata</i> AVALIADA ATRAVÉS DO TESTE DA PLACA QUENTE.....	144
TABELA 25 – ATIVIDADE DAS AMOSTRAS DE <i>Bauhinia unguolata</i> L. SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS.....	152

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AA	Atividade antioxidante
AAR	Atividade Antioxidante Relativa
ABAP	2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloreto
Abs	Absorbância
ANOVA	Análise de variância
ATCC®	<i>American Type Culture Collection</i>
BHT	Butil-hidroxitolueno
BOD	demanda bioquímica do oxigênio
CCD	Cromatografia em camada delgada
CD ₃ OD	Metanol deuterado
CI ₅₀	Concentração Inibitória 50%
CL ₅₀	Concentração letal 50%
CIM	Concentração inibitória mínima
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	Correlação homomolecular (1H x 1H)
d	Dubleto
dd	Duplo dubleto
DEPT	Experimento de ¹³ C utilizando transferência de polarização
DMSO	Dimetilsulfóxido
DP	Desvio Padrão
DPPH•	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EAG	Equivalente de ácido gálico
EB	Extrato Etanólico Bruto
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FAE	Fração acetato de etila
FCL	Fração clorofórmio
FR	Fração hidroalcoólica residual
HMQC	Espectro de correlação heteronuclear (¹ H x ¹³ C) com transições múltiplo-quânticas
HPV	<i>Human papillomavirus</i>
Hz	hertz
IA	Índice antioxidante
i.p.	Intra-peritoneal
IVG	Índice de velocidade de germinação
J	Constante de acoplamento
m	multiplete
MDA	Malonaldeído
MHZ	megahertz
MPO	Mieloperoxidase
MTT	Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazólio
NADPH	<i>Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate-oxidase</i>
NBT	azul p-Nitrotetrazólio

O ₂ ⁻	Ânion superóxido
PBS	Salina tamponada com fosfatos
pH	Potencial hidrogeniônico
PMA	13-acetato de fobol éster 12 miristato
ppm	Partes por milhão
RMN de ¹ H	Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
RMN de ¹³ C	Ressonância magnética nuclear de carbono treze
SDS	Dodecil sulfato de sódio
SiHa	Linhagem celular de câncer de collo de útero
sl	Simpleto largo
SNC	Sistema Nervoso Central
SOD	Superóxido dismutase
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TMS	Tetrametilsilano
TPA	<i>O-tetradeconoilforbol-13-acetato</i>
TSA	Meio de cultura <i>Tryptic Soy Tooltip Agar</i>
TSB	Meio de cultura <i>Tryptic Soy Broth</i>
TTC	Cloreto de trifeniltetrazólio
UFC	Unidade formadora de colônia
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
1.1 OBJETIVO GERAL	10
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	10
2 REVISÃO DA LITERATURA	12
2.1 FAMÍLIA FABACEAE	12
2.2 GÊNERO <i>Bauhinia</i> L.	12
2.3 ESPÉCIE <i>Bauhinia unguolata</i> Linné	37
3 MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	49
3.2 PARÂMETROS FARMACOPEICOS	51
3.2.1 Determinação de água	51
3.2.2 Determinação de cinzas totais	51
3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	51
3.3.1 Preparo do extrato hidroalcoólico a 20%.....	52
3.3.1.1 Pesquisa de alcaloides.....	52
3.3.1.2 Pesquisa de leucoantocianidinas	52
3.3.1.4 Pesquisa de cumarinas	53
3.3.1.5 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos.....	54
3.3.2 Preparo do extrato aquoso	55
3.3.2.1 Teor de sólidos.....	56
3.3.2.2 Pesquisa de heterosídeos antociânicos	56
3.3.2.3 Pesquisa de heterosídeos saponínicos	56
3.3.2.4 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos	57
3.3.2.5 Pesquisa de taninos	57
3.3.2.6 Pesquisa de amino grupos	58
3.3.2.7 Pesquisa de ácidos fixos	58
3.3.2.8 Pesquisa de ácidos voláteis	59
3.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO	59

3.5 FRACIONAMENTO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	59
3.5.1 Fracionamento	59
3.5.2 Isolamento dos compostos.....	60
3.5.3 Identificação dos compostos da FAE	61
3.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	61
3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA	62
3.7.1 Teste da atividade hemolítica com hemácias em suspensão.....	62
3.7.2 Teste de Atividade Hemolítica em Placas de Ágar Sangue	63
3.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS	63
3.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	65
3.9.1 Redução do Complexo Fosfomolibdênio.....	65
3.9.2 Redução do Radical DPPH	65
3.9.3 Método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS	66
3.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA.....	67
3.10.1 Teste de Germinação.....	68
3.10.2 Teste de Crescimento	68
3.10.3 Respiração radicular.....	69
3.10.4 Conteúdo de clorofila total.....	70
3.10.5 Análise Estatística	70
3.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	71
3.11.1 Concentração inibitória mínima (CIM)	71
3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA.....	72
3.12.1 Animais.....	72
3.12.2 Grupos experimentais	73
3.12.3 Avaliação da atividade antinociceptiva.....	74
3.12.3.1 Nocicepção induzida por formalina.....	74
3.12.3.2 Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	74
3.12.3.3 Teste da placa quente.....	75
3.12.4 Avaliação da atividade anti-inflamatória	75
3.12.4.1 Edema de Pata Induzido por Carragenina	75

3.12.4.2 Medida da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO) e Análise histológica	76
3.12.5 Efeito do extrato sobre a atividade locomotora	77
3.12.6 Análise estatística	77
3.13 ATIVIDADE IMUNOMODULADORA SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS.....	78
3.14 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE POR REDUÇÃO DO MTT	79
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
4.1 PARÂMETROS FARMACOPEICOS.....	81
4.1.1 Determinação de água	81
4.1.2 Determinação de cinzas totais	81
4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	82
4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO	86
4.4 FRACIONAMENTO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	86
4.4.1 Fracionamento do Extrato Bruto Etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i>	86
4.4.2 Isolamento dos compostos da FAE.....	87
4.4.3 Identificação dos compostos da FAE	89
4.4.3.1 Identificação estrutural de BAU2	89
4.4.3.2 Identificação estrutural de BAU3A.....	97
4.4.3.3 Identificação estrutural de BAU4	103
4.4.2.5 Identificação estrutural de BAU5	108
4.4.2.3 Identificação estrutural de BAU6	114
4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE FRENTE À <i>Artemia salina</i>	118
4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA	119
4.7 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS - TESTE DE FOLIN-CIOCALTEU.....	120
4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	121
4.8.1 Redução do Complexo Fosfomolibdênio.....	121
4.8.2 Redução do radical DPPH.....	123
4.8.3 Método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS	125
4.9 ATIVIDADE ALELOPÁTICA.....	126
4.9.1 Bioensaios de germinação e crescimento	126

4.9.2 Conteúdo de clorofila e respiração radicular	132
4.10 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA	136
4.10.1 Concentração Inibitória Mínima.....	136
4.11. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA.....	138
4.11.1 Avaliação da atividade antinociceptiva.....	138
4.11.1.1 Nocicepção induzida por formalina.....	138
4.11.1.2 Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético	142
4.11.1.3 Teste da placa quente.....	144
4.11.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória	145
4.11.2.1 Edema de Pata Induzido por Carragenina	145
4.11.2.2 Atividade da mieloperoxidase (MPO) e análise histológica.....	146
4.11.3 Efeito do extrato sobre o desempenho motor no teste de atividade locomotora	151
4.12. ATIVIDADE SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS	152
4.13 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE POR REDUÇÃO DO MTT	154
5 CONCLUSÃO	157
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	159
ANEXO 1.....	216
ANEXO 2.....	217
ANEXO 3.....	218

1 INTRODUÇÃO

O uso de produtos naturais como matéria prima para a síntese de fármacos tem sido amplamente relatado ao longo do tempo (GUERRA; NODARI, 2003; BARREIRO, BOLZANI, 2009; BRANDÃO *et al.*, 2010). Considerando a extensa e diversificada flora do Brasil, detendo aproximadamente um terço da flora mundial, é fundamental a contribuição dada por grupos de pesquisa ao desenvolvimento da química, quimiotaxonomia e farmacologia de produtos naturais (YUNES; PEDROSA; CECHINEL FILHO, 2001). Neste contexto, a fitoquímica associada a ensaios biológicos podem contribuir significativamente para o crescimento sustentável de um país através da investigação, divulgação e geração de novos conhecimentos além da formação de recursos humanos qualificados (BRAZ FILHO, 2010).

As plantas são fontes de produtos naturais biologicamente ativos, os quais podem ser empregados como modelos para a síntese de grande número de fármacos (GUERRA; NODARI, 2003; BARREIRO, BOLZANI, 2009; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010). A biodiversidade das florestas tropicais constitui-se na principal fonte de biomoléculas para a produção industrial de medicamentos, e os fitoterápicos tem sido o suporte da indústria farmacêutica de pequeno e médio porte (REIS; MARIOT; STEENBOCK, 2003; COSTA-LOTUFO *et al.*, 2010).

Muitos fármacos foram revelados à ciência por culturas primitivas ao redor do mundo. Na América do Sul, a população indígena tem contribuído para inúmeras investigações acerca da ação de plantas e, apesar disto, acredita-se que tenham descoberto somente uma parte de toda a flora disponível. O número de plantas contendo substâncias potencialmente aplicáveis com propriedades biológicas, farmacológicas ou terapêuticas que não foram aproveitadas por esta população é ainda muito extenso (GOTTLIEB; BORIN, 2003).

Produtos naturais são considerados fontes de novos agentes antibacterianos, anti-inflamatórios, analgésicos, antioxidantes, imunológicos e citotóxicos, e neste contexto, a pesquisa destas atividades a partir de extratos de plantas, frações e substâncias isoladas, podem contribuir para o conhecimento. Agentes herbicidas

obtidos a partir de substâncias encontradas em plantas vêm sendo estudados principalmente pela importância do controle da contaminação ambiental e à redução do risco de resíduos em alimentos. Espécies vegetais presentes na flora, que por vezes, apresentam pouco ou nenhum relato etnofarmacológico, também devem ser incluídas no elenco de estudos biológicos multidisciplinares (PHILIPPSEN, 2010).

Desta forma a pesquisa com plantas medicinais continua sendo o marco principal na descoberta de novas substâncias dotadas de atividade farmacológica que podem fazer parte da composição de futuros medicamentos, que serão utilizados no tratamento e controle de patologias, levando a uma melhor qualidade de vida para o paciente.

Neste sentido, devido a existência de poucas informações em literaturas técnicas e científicas acerca da composição química e atividades biológicas de *Bauhinia unguolata* L., justifica-se o estudo da mesma, em busca de substâncias providas de atividades de interesse científico.

1.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo fitoquímico, alelopático, de toxicidade, antibacteriano, antioxidante, anti-inflamatório, antinociceptivo, atividade hemolítica do extrato etanólico e frações hexano, clorofórmio, acetato de etila e hidroalcoólica, provenientes das folhas de *Bauhinia unguolata* L. além da atividade sobre neutrófilos humanos e citotoxicidade das substâncias isoladas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar análise do teor de água e cinzas totais das folhas secas;
- Realizar análise fitoquímica preliminar identificando as principais classes de constituintes presentes no extrato bruto etanólico e frações;
- Preparar extrato bruto etanólico e frações hexano, clorofórmio e acetato de etila e fração residual a partir das folhas secas;

- Isolar os compostos presentes na fração acetato de etila por meio de técnicas cromatográficas;
- Identificar os compostos isolados por meio de RMN de ^1H e ^{13}C ;
- Verificar a toxicidade do extrato etanólico e frações frente ao microcrustáceo *Artemia salina*;
- Verificar a atividade hemolítica do extrato etanólico e frações;
- Verificar o teor de compostos fenólicos totais através da análise colorimétrica de Folin-Ciocalteau;
- Verificar a atividade antioxidante do extrato etanólico e frações por meio da formação do complexo fosfomolibdênio, da reatividade contra o radical livre α -difenil- β -picrilhidrazila (DPPH•) e pelo método das espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico;
- Verificar os efeitos alelopáticos do extrato etanólico e frações frente às sementes de *Lactuca sativa* (alface) e *Allium cepa* (cebola) por ensaios de germinação, crescimento, teor de clorofila e respiração;
- Verificar a atividade antibacteriana do extrato etanólico e frações frente às cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923, *Escherichia coli* ATCC[®] 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 27853 e *Enterococcus faecalis* ATCC[®] 29212;
- Verificar atividade anti-inflamatória e antinociceptiva do extrato etanólico em modelos *in vivo*;
- Verificar atividade dos compostos isolados sobre neutrófilos humanos;
- Verificar a citotoxicidade dos compostos isolados por redução do MTT utilizando a linhagem celular SiHa (ATCC[®] HTB35TM/Neoplasia de cérvix uterina escamosa humana com genoma de HPV16).

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 FAMÍLIA FABACEAE

A família Fabaceae (Leguminosae) é uma das maiores dentre as dicotiledôneas, espalhadas em todo mundo (JOLY, 1985), englobando cerca de 630 gêneros e 18.000 espécies (JUDD *et al.* 2009), sendo considerada a terceira maior família de fanerógamas (LEWIS, 1987).

As leguminosas são representadas por grandes árvores, arbustos, subarbustos, ervas anuais ou perenes e também muitas trepadeiras; presentes nos mais variados ambientes, em diferentes altitudes e latitudes (JOLY, 1985), desde floresta úmida tropical, desertos e espécies aquáticas (LEWIS, 1987).

Uma característica típica dessa família é a ocorrência do fruto do tipo legume, também conhecido como vagem, exclusivo desse grupo. As leguminosas ocorrem em quase todas as regiões do mundo, com exceção da região ártica e antártica e em algumas ilhas. No Brasil são conhecidos 213 gêneros e 2.740 espécies (VAZ, 2014).

Apresentam elevada importância econômica sendo consideradas como o meio mais eficaz de obtenção de proteína comestível, principalmente em países subdesenvolvidos (LEWIS, 2005). Produzem também algumas tinturas, resinas viscosas e goma arábica, fonte de tanino para a indústria de couro, produção de perfumes, óleos e inseticidas (LEWIS, 1987). Várias espécies são destinadas à recuperação de solos ou adubação verde devido à simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, outras são utilizadas na apicultura ou fornecem madeiras nobres e valiosas (POTT; POTT, 1994). Importantes propriedades medicinais também são encontradas em várias espécies pertencentes a esta família.

2.2 GÊNERO *Bauhinia* L.

No gênero *Bauhinia* L. estão classificadas 350 espécies (THE PLANT LIST, 2013) encontradas nas áreas tropicais do planeta (CECHINEL FILHO, 2009). No Brasil

são listadas 59 espécies com domínios fitogeográficos principalmente na Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (VAZ, 2014).

As plantas deste gênero são conhecidas popularmente como “pata-de-vaca”, “pé-de-boi” ou “unha-de-boi” (CORRÊA, 1952) além de “mororó do sertão”, “miroró”, “pata de cabra”, “mão de vaca”, “pata de veado” (LORENZI; MATOS, 2008) em alusão ao formato das folhas que lembram o rastro de bovinos.

Algumas espécies podem ser utilizadas na recuperação de áreas degradadas (LORENZI, 1991) e na arborização pública como ornamentais (*B. blakeana*, *B. monandra*, *B. variegata*), entretanto, representantes deste gênero se destacam por suas propriedades medicinais. São utilizados na forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades, principalmente com finalidade hipoglicemiante, hipocolesterolêmica, expectorante, depurativa, diurética, antidiarreica, anti-infecciosa e em processos dolorosos (SILVA; GECHINEL-FILHO, 2002).

O uso popular medicinal mais comum descrito pela literatura é na redução da glicemia observada em várias espécies de *Bauhinia* L. São geralmente utilizadas por pessoas diabéticas, na forma de chá, preparado por decocto de uma colher de sopa do pó das folhas secas em uma xícara de água, e administrado nas doses de meia a duas xícaras, até duas vezes ao dia. Diante do fato de que todas as plantas do gênero recebem a mesma denominação popular de “pata-de-vaca”, elas muitas vezes são utilizadas indistintamente por grande parte da população (LORENZI; MATOS, 2008) e em alguns casos os resultados esperados nem sempre são obtidos, tendo em vista a diferente composição química.

Uma pesquisa realizada com idosos assistidos em uma Unidade Básica de Saúde de Pelotas-RS investigou quais as plantas medicinais utilizadas como terapia complementar no tratamento dos sintomas do diabetes mellitus. Os entrevistados relataram o uso de 20 plantas e entre elas espécies de *Bauhinia* (*B. affinis*, *B. forficata* ou *B. variegata*) estiveram entre as mais citadas (FEIJÓ *et al.*, 2012). Já em Vitória de Santo Antão, Pernambuco, pacientes diabéticos atendidos nos postos de saúde da cidade foram indagados sobre a utilização de plantas medicinais como agente hipoglicemiante, e a mais prevalente, com 16,8%, foi a pata de vaca (*Bauhinia* sp.) (SANTOS; NUNES; MARTINS, 2012b). Já a *B. rufa* esteve entre as dez plantas mais

citada por uma população entrevistada em Nova Xavantina, Mato Grosso (DA SILVA *et al.*, 2010). Ainda neste estado, a *B. glabra* foi citada entre 17 plantas utilizadas pela população de algumas comunidades no tratamento do diabetes (MACEDO; FERREIRA, 2004). Em Maracanaú (Ceará), em 2002, a *B. forficata* na forma de tintura para uso interno era produzida e distribuída através do Programa Farmácias Vivas no sistema público de Saúde para tratamento do diabetes, sendo considerado o segundo fitoterápico mais prescrito no período analisado (SILVA *et al.*, 2006).

A *Bauhinia forficata* também foi citada como adjuvante no tratamento do diabetes melitus por pacientes inseridos no Programa de Hiperdia do Centro de Saúde Sebastião Azevedo no município de Jequié na Bahia (DA SILVA *et al.*, 2008) e também como uma das plantas utilizadas no estado do Rio Grande do Sul como hipoglicêmica (TROJAN-RODRIGUES *et al.*, 2012). A raiz da *B. glabra* e as folhas e casca do caule da *B. rufa* foram citadas em um estudo que identificou as plantas utilizadas no tratamento do diabetes por comunidades localizadas na Bacia do Alto Paraguai e no Vale do Guaporé, Mato Grosso (MACEDO; FERREIRA, 2004). *Bauhinia rufa* esteve entre as dez plantas mais utilizadas pela população para o tratamento da hiperlipidemias e obesidade em um estudo realizado no Cerrado mato-grossense (SILVA *et al.*, 2010). Popularmente a literatura também faz referências ao uso da casca do caule e raiz de *B. reticulata* na lavagem de feridas e as folhas e frutos (secos) da *B. rufescens* é aplicado na forma de pó em micoses na cabeça de crianças (INNGJERDINGEN *et al.*, 2004).

O primeiro estudo clínico realizado com uma planta do gênero ocorreu em 1929 com a *B. forficata*, uma planta asiática bem adaptada ao clima brasileiro (MIYAKE; AKISUE; AKISUE, 1986) que demonstrou atividade hipoglicemiante em pacientes diabéticos (LORENZI; MATOS, 2008). É uma das espécies do gênero mais estudadas e muitas pesquisas confirmam seu potencial hipoglicêmico (VOLPATO, 2001; SILVA; CECHINEL-FILHO, 2002), entretanto, estudos realizados no Brasil questionaram esta atividade mostrando resultados variáveis e contraditórios (CECHINEL-FILHO, 2009). Um exemplo disso foi um estudo clínico realizado por Russo *et al.* (1990) que não observou redução nos níveis glicêmicos em pacientes com diabetes tipo II que utilizaram infusão preparada com folhas de *B. forficata*. Alguns autores têm sugerido

que estas diferenças na atividade podem estar relacionadas principalmente a produção diferencial ou concentração dos metabólitos secundários, como consequência de diferentes fatores ambientais, bem como estágio de desenvolvimento, idade, nutrientes do solo e altitude (CECHINEL FILHO; YUNES, 1998; GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Com relação às atividades biológicas descritas com plantas do gênero *Bauhinia*, a TABELA 1 ilustra as principais publicações.

TABELA 1- ATIVIDADES BIOLÓGICAS DESCRITAS EM ESTUDOS COM PLANTAS DO GÊNERO *Bauhinia*

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
<i>B. acuruana</i>	raízes	larvicida	GÓIS <i>et al.</i> , 2013
<i>B. bowkeri</i>	folhas	antioxidante antimicrobiana, anti-inflamatória	AHMED <i>et al.</i> , 2012
<i>B. candicans</i>	folhas	hipoglicemiante	LEMUS <i>et al.</i> , 1999; FUENTES, ARANCIBIA-AVILA, ALARCÓN, 2004; MARDONES, ENOS, 2010
		estímulo da recaptção de glicose	FUENTES, ALARCÓN, 2006
<i>B. cheilandra</i>	folhas	hipoglicemiante	ALMEIDA <i>et al.</i> , 2006
<i>B. divaricata</i>	folhas	hipoglicemiante	ROMÁN-RAMOS <i>et al.</i> , 1992
<i>B. forficata</i>	folhas	hipoglicemiante	SILVA <i>et al.</i> , 2002; DE SOUZA <i>et al.</i> , 2004; MENEZES <i>et al.</i> , 2007; DA CUNHA <i>et al.</i> , 2010
	folhas	antioxidante	DAMASCENO <i>et al.</i> , 2004; SOUZA <i>et al.</i> , 2004; KHALIL <i>et al.</i> , 2008; SOUZA <i>et al.</i> , 2009; SALGUEIRO <i>et al.</i> , 2013; SAYAGO <i>et al.</i> , 2013
	folhas	hipoglicemiante	PEPATO <i>et al.</i> , 2002

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	folhas	antidiabética, antilipidêmica, hipocolesterolêmica	LINO <i>et al.</i> , 2004
	partes aéreas	anticoagulante, antifibrinolítica	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2005
	semente, fruto, talo	antibacteriana	LUJÁN, CORRAL, 2008
	folhas	antioxidante, previne movimentos involuntários	PEROZA <i>et al.</i> , 2013
	sementes	citotóxica	SILVA <i>et al.</i> , 2014
<i>B. galpinii</i>	folhas	antioxidante	ADEROGBA <i>et al.</i> , 2007; AHMED <i>et al.</i> , 2012
	folhas	antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória	AHMED <i>et al.</i> , 2012
<i>B. guianensis</i>	casca do caule	anti-inflamatória, analgésica	CARVALHO; SANTOS; VIANA, 1999
	casca do caule	antimalárica	MUÑOZ <i>et al.</i> , 2000
	folhas, raízes	alelopática	MOURÃO JÚNIOR, SOUZA FILHO, 2010
	córtex	antioxidante	TAIPE, GÓMEZA, CAYCHO, 2008
<i>B. kalbreyeri</i>	folha e caule	antioxidante	MURILLO <i>et al.</i> , 2007
	folha	anti-inflamatória, antioxidante	MORENO, TURNER, 2012
<i>B. kockiana</i>	flores	antioxidante, antibacteriana	CHEW <i>et al.</i> , 2011
<i>B. longifolia</i>	folhas	antiviral	DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2014a
<i>B. malabarica</i>	raíz	antimalárica	KITTA KOOP <i>et al.</i> , 2000
<i>B. megalandra</i>	folha	inibição da absorção de glicose intestinal, glicose-6-fosfatase e gliconeogênese hepática	GONZALEZ-MUJICA <i>et al.</i> , 2005

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	folhas	inibe a absorção de glicose intestinal	RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2010
<i>B. microstachya</i>	folhas	analgésica	MEYRE SILVA <i>et al.</i> , 2001
	casca	antioxidante	MENEZES <i>et al.</i> , 2004
	folhas	antiespasmódica	RAMOS <i>et al.</i> , 2005
	folhas	antinociceptiva	GADOTTI <i>et al.</i> , 2005
	folhas	hipoglicemiante	MENEZES <i>et al.</i> , 2007
	folha	antioxidante	SILVA <i>et al.</i> , 2007
	folhas, raízes	alelopática	MOURÃO JÚNIOR, SOUZA FILHO, 2010
<i>B. monandra</i>	folhas	hipoglicemiante	MENEZES <i>et al.</i> , 2007
	folhas	antioxidante	ARGÔLO <i>et al.</i> , 2004
<i>B. platypetala</i>	folhas	antioxidante	SANTOS <i>et al.</i> , 2012
	folhas	ansiolítica	DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2012
<i>B. petersiana</i>	folhas	antioxidante antimicrobiana, anti-inflamatória	AHMED <i>et al.</i> , 2012
<i>B. purpurea</i>	folhas	antinociceptiva, anti-inflamatória, antipirética	ZAKARIA <i>et al.</i> , 2007
	raíz	antimicobacteriana, anti-inflamatória, antimalárica, antifúngica, citotóxica	BOONPHONG <i>et al.</i> , 2007
	folhas	antinociceptiva, anti-inflamatória, antipirética	ZAKARIA <i>et al.</i> , 2007
	raíz	antimicobacteria, antimalária, antifúngica, citotóxica, anti-inflamatória	BOONPHONG <i>et al.</i> 2007

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	caule	analgésica, anti-inflamatória	SHREEDHARA <i>et al.</i> , 2009
	folhas	nefroprotetora	LAKSHMI <i>et al.</i> , 2009
	folhas	hipoglicemiante	MARTINEZ <i>et al.</i> , 2009
	casca	antilipidêmica, hipocolesterolêmica	RAMGOPAL <i>et al.</i> , 2010
	folhas	cicatrizante	ANANTH <i>et al.</i> , 2010
	folhas	hepatoprotetora	VEENA <i>et al.</i> , 2011
	folhas	anti-úlceras	ZAKARIA <i>et al.</i> , 2011; ZAKARIA <i>et al.</i> , 2012
	folhas, fruto	anti-hiperlipidêmica, anti-aterogênica	LAKSHMI <i>et al.</i> , 2011
	casca	hepatoprotetora	CHATURVEDI <i>et al.</i> , 2011
	folhas	antimicrobiana	NEGI <i>et al.</i> , 2012
	folhas	anti-úlceras, antissecretora, citoprotetora	HISAM <i>et al.</i> , 2012
	sementes	inibidor de carcinoma hepatocelular	FANG <i>et al.</i> , 2012
	folhas	hepatoprotetora, antioxidante	YAHYA <i>et al.</i> , 2013
	casca do caule	hipoglicemiante	MESHARAM, ITANKAR, PATIL, 2013
		hepatoprotetor (quimioprotetor)	NAFEES <i>et al.</i> , 2013
	folhas, galhos	antioxidante	DOS SANTOS <i>et al.</i> , 2014b
<i>B. racemosa</i>	partes aéreas	antimicrobiana	ALI <i>et al.</i> , 1995;
	botões florais	anti-ulcerogênica	AKHTAR, AHMAD, 1995
	casca do caule	antitumoral, antioxidante	GUPTA <i>et al.</i> , 2004

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	casca do caule	hepatoprotetora	KUMAR <i>et al.</i> , 2005
	casca do caule	anti-inflamatória, analgésica, antipirética	GUPTA <i>et al.</i> , 2005
	casca do caule	antioxidante, antimicrobina	KUMAR <i>et al.</i> , 2005
	casca do caule	quimiopreventiva, antioxidante	KUMAR <i>et al.</i> , 2007
	folhas	anti-histamínica	NIRMAL <i>et al.</i> , 2011
	folhas	antiparasitária	SASHIDHARA <i>et al.</i> , 2012
	folhas	hipolipidêmica	SASHIDHARA <i>et al.</i> , 2013
<i>B. rufescens</i>	caule	antioxidante	COMPAORÉ <i>et al.</i> , 2012
	casca do caule	antimicrobiana	MUHAMMAD, SIRAT, 2013b
<i>B. scandens</i>	folhas	antitumoral	HAZRA; CHATTERJEE, 2008
<i>B. splendens</i>	caule	antinociceptiva	CECHINEL FILHO <i>et al.</i> , 1995; WILLAIN FILHO <i>et al.</i> , 1997
	folhas	antimicrobiana	SAVI <i>et al.</i> , 1996
<i>B. strychnifolia</i>	caule	citotóxica	KAEWPIBOON <i>et al.</i> , 2012
	caule	anticancerígena	YUENYONGSAWAD <i>et al.</i> , 2013
<i>B. tarapotensis</i>	folhas	antioxidante	BRACA <i>et al.</i> , 2001
	folhas	anti-inflamatória	SOSA <i>et al.</i> , 2002
<i>B. thonningii</i>	folhas	hipocolesterolêmica	OJEZELE, ABATAN, 2011
		hipoglicemiante, redutor de risco coronariano	
	folhas	gastroprotetora, antioxidante	ABDELWAHAB <i>et al.</i> , 2013
<i>B. tomentosa</i>	folhas	imunomoduladora, anti-inflamatória, antioxidante	KANNAN, GURUVAYOORAPPAN, 2010

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	raízes	antimicrobiana	DUGASANI <i>et al.</i> , 2010
	folhas	anti-inflamatória; antioxidante	KANNAN, GURUVAYOORAPPAN, 2013
<i>B. unguolata</i>	folhas	anticolinesterásica	SANTOS <i>et al.</i> , 2011
	folhas	antioxidante	PORT'S <i>et al.</i> , 2013
	folhas	hipoglicemiante	MORAIS <i>et al.</i> , 2005
<i>B. vahlii</i>	raízes	antimicrobiana	DUGASAN <i>et al.</i> , 2010
	casca do caule	anti-inflamatória, antidiabética	DAS, JAGANNATH, CHANDRA, 2012
	folhas	antioxidante	SOWNDHARARAJAN, KANG, 2013
<i>B. variegata</i>	folhas	antimicrobiana	POKHREL <i>et al.</i> , 2002
	raíz	anti-inflamatória	YADAVA , REDDY, 2003a
	caule	antitumoral	RAJKAPOOR, JAYAKAR, N. MURUGESH, 2003
	caule	quimioprotetora, citotóxica	RAJKAPOOR, MURUGESH, RAMA KRISHNA, 2009
	casca do caule	hepatoprotetora	BODAKHE; RAM, 2007
	partes aéreas não lenhosas	anti-inflamatória	RAO <i>et al.</i> , 2008
	folhas	antinociceptiva e anti-inflamatória	MOHAMED, MAMMOUD, HAYEN, 2009
	caule	citotóxica	RAJKAPOOR, MURUGESH, RAMA KRISHNA, 2009
	casca do caule, raíz	antioxidante, anti-hiperlipidêmica	RAJANI, ASHOK, 2009
	casca	anticarcinogênica, antimutagênica	AGRAWAL PANDEY, 2009
	folhas	anticarcinogênica, antimutagênica	AGRAWAL; PANDEY, 2010

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	ATIVIDADE BIOLÓGICA	REFERÊNCIA
	caule	nefroprotetora	PANI <i>et al.</i> , 2011
	folhas	anti-hiperlipidêmica	KUMAR <i>et al.</i> , 2012
	casca do caule	hipoglicêmica	KUMAR <i>et al.</i> , 2012
	folhas	antioxidante	AHMED <i>et al.</i> , 2012
	folhas	molucicida	SINGH, SINGH, SINGH, 2012
	sementes	antioxidante, inibidor da enzima relacionada ao diabetes tipo II	GAUTAM <i>et al.</i> , 2012
	folhas	antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória	AHMED <i>et al.</i> , 2012
	folhas	antibacteriana, anti-carcinogênica, antioxidante	MISHRA <i>et al.</i> , 2013
	folhas	antioxidante	SAYAGO <i>et al.</i> , 2013

Fonte: A autora (2014)

conclusão

Com relação a toxicidade, não foram observados efeitos tóxicos com o extrato aquoso da *B. forficata*, através de avaliação enzimática, em ratos diabéticos (PEPATO *et al.*, 2004), nem efeitos mutagênicos (DÜSMAN *et al.*, 2013) e o extrato aquoso da *B. purpurea* na dose de 5.000 mg/kg, não provocou qualquer sinais de toxicidade em ratos, quando administrado por via oral (HISAM *et al.*, 2012).

Compostos químicos encontrados no gênero pertencente a diversas classes, entre elas os terpenoides, alcaloides, esteroides, triterpenos, taninos, quininas, cumarinas e flavonoides. De acordo com alguns autores, os efeitos hipoglicêmicos parecem estar relacionados, pelo menos parcialmente, à presença de flavonoides, especialmente a quercetina 3-O-alfa-(2"-galoil) ramnosídeo e canferol 3-O-alfa (2"-galoil) ramnosídeo (ESTRADA *et al.*, 2005.; GONZALEZ-MUJICA *et al.*, 2005). De acordo com Engel *et al.* (2008) na *B. forficata* é encontrado a kaempferitrina, um flavonóide, que poderia ser utilizado como marcador para fitopreparados que contém

esta planta. Na TABELA 2 é possível observar os compostos já isolados nas espécies do gênero *Bauhinia*.

TABELA 2 - COMPOSTOS ENCONTRADOS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *Bauhinia*

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
<i>B. acuruana</i>	raízes	(1) pacharina	GÓIS <i>et al.</i> , 2013
<i>B. aurea</i>	folhas	(1) ácido 3,4-di-hidroxibenzóico; (2) ácido 4-hidroxibenzóico; (3) ácido 3-hidroxi-4-metoxi-benzóico; (4) ácido 4-hidroxi-3-methoxibenzóico; (5) ácido gálico; (6) metil galato; (7) etil galato; (8) lupeol; (9) lupenona; (10) estigmast-4-en-3-ona; (11) β -sitosterol; (12) daucosterol	SHANG <i>et al.</i> , 2006
		(1) astilbina; (2) isoastilbina; (3) isoengeletina; (4) neoastilbina; (5) neoisoastilbina; (6) catequina; (7) epicatequina (8) epicatequina 3-O-galato	SHANG <i>et al.</i> , 2007
	caule	(1) 6,6-bisastilbina; (2) (Z)-5 α ,6 β -dihidroxi-4 β -methoxi-2-ciclohexene- $\Delta^{1,\alpha}$ (3) acetonitrila; (4) bauhinina; (5) bauhinilida; (6) dehidrodicatequina A	SHANG <i>et al.</i> , 2012
<i>B. candicans</i>	folhas	(1) trigonelina; (2) sitosterol 3-O- β -glucosideo; (3) kampferol 3-O- β -rutinosideo; (4) kampferol3-O- β -rutinosideo 7-O-- β -ramnopiranosideo (5) sitosterol; (6) campesterol; (7) estigmasterol; (8) colesterol; (9) estigmasta-3,5-dien-7-ona	IRIBARREN; POMILIO, 1983

continua

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	continuação FONTE
	flores	(1) 3-O-metyl-D-inositol (D-pinitol); (2) kampferol 3-O- β -rutinosídeo; (3) kampferol 3-O- β -rutinosídeo 7-O- β -ramnopiranosídeo.	IRIBARREN; POMILIO, 1983
	partes aéreas	(1) sitosterol 3-O- β -D - xiluronofuranosídeo.	IRIBARREN; POMILIO, 1985
	partes aéreas	(1) sitosterol 3-O- α -D - xiluronofuranosídeo.	IRIBARREN; POMILIO, 1987
	folhas	(1) kampferol-3,7-O- α -L-diramnosídeo; (2) kampferol-3-O- β -D-glucopiranosil-(6 \rightarrow 1)- β -L ramnopiranosil-7-O- α -L-ramnopiranosídeo; (3) quercetina-3,7-O- α -L-diramnosídeo; (4) quercetina-3-O- β -D-glucopiranosil-(6 \rightarrow 1)- β -L-ramnopiranosil-7-O- α -L-ramnopiranosídeo.	FUENTES; ALARCÓN, 2006
<i>B.championii</i>	raízes	(1) 5,6,7,5'-tetrametoxi-3',4'-metilenedioxi flavona; (2) 5,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona; (3) 5,7,5'-trimetoxi-3',4'- metilenedioxi flavona; (4) 5,6,7,3', 4'-penta metoxiflavona; (5) 5,7,3',4',5'-penta metoxiflavona; (6) 5,7,3',4'-tetra metoxiflavona.	CHEN <i>et al.</i> , 1984
	caule	(1) 3',4'-metilenedioxi-5,6,7,5'-tetrametoxiflavona; (2) 5,6,7,3',4',5'-hexametoxiflavona; (3) 5,6,7,3',4'-pentametoxiflavona; (4) 3',4'-metilenedioxi-5,7,5'-trimetoxiflavona; (5) 5,7,3',4',5'-pentametoxiflavona; (6) 5,7,3',4'-tetrametoxiflavona; (7) ácido gálico; (8) friedelina; (9) 4-metilisoliquiritigenina; (10) estrobopinina; (11) ácido siringico; (13) d-catequina.	CHEN; HUANG; OU, 1994
		(1) 2,4,6-trimetoxifenol 1-O- β -D-(6'-O-galoil)-glucopiranosídeo; (2) (+/-)-lioniresinol (2); (3) daucosterol; (4) beta-sitosterol; (5) ácido gálico.	BAI <i>et al.</i> , 2005

continua

			continuação
ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
		(1) myricetina; (2) quercetina; (3) kanferol.	XU <i>et al.</i> , 2012
		(1) β -sitosterol (2) ducosterol (3) triacontano (4) hexacontano (5) quercitina (6) 2,4,6-trimethoxyphenol-1-O- β -D-(6'-O-galloyl)-glucopyranoside (7) miricitrina (8) 5,7,3',4',5'-hexamethoxyflavone (9) oblongixantona A	Xu <i>et al.</i> ; 2013
<i>B. forficata</i>	folhas	(1) kaempferitrina.	SAYAGO <i>et al.</i> , 2013
	folhas	(1) β -sitosterol; (2) kampferol-3,7-diramnosideo (kampferitrina).	SILVA <i>et al.</i> , 2000
	folhas	(1) kampferol-3-O-(glucose-ramnose-xilose) (2) kampferol-3-O-(glucose-ramnose)	PAULA <i>et al.</i> , 2002
	folhas	(1) 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosil kampferol; (2) 3,7-di-O- α -L ramnopiranosil quercetina; (3) 3-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil]-7-O- α -L- ramnopiranosil kampferol; (4) 3-O-[α -L-ramnopiranosil-(1 \rightarrow 6)- β -D-glucopiranosil]-7-O- α -L-ramnopiranosil quercetina	PIZZOLATTI <i>et al.</i> , 2003
	flores	(1) 7-O- α -L-ramnopiranosil kampferol	PIZZOLATTI <i>et al.</i> , 2003
	folhas	(1) kampferol-3,7-O- α -diramnosideo (kampferitrina)	DE SOUSA <i>et al.</i> , 2004
	folhas	(1) quercetina-3,7-O-diramnosído; (2) kampferol-3,7-O-diramnosído (kaempferitrina)	MENEZES <i>et al.</i> , 2007
	folhas	(1) quercetina-3-O-(2-ramnosil) rutinosideo, (2) kampferol-3-O-(2-ramnosil) rutinosideo, (3) quercetina-3-O-rutinosideo, (4) kampferol-3-O-rutinosídeo.	SALGUEIRO <i>et al.</i> ,2013

continua

continuação			
ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
<i>B. galpinii</i>	folhas	(1) quercetina-3-O-galactopiranosídeo; (2) miricetina-3-O-galactopiranosídeo; (3) 2''-O-ramnosilvitexina;	ADEROGBA <i>et al.</i> , 2007
<i>B. glauca</i> subespécie <i>pernervosa</i>	caule	(1) 6-metil homoeriodictiol; (2) bauhinasideo A; (3) bauhinasina; (4) 2',4'-dihidroxi-4-methoxidihidrochalcona-4'-O-β-D-glucopiranosideo; (5) farrerol, (6) homoeriodictiol; (7) 2',4'-dihidroxi-4-methoxidihidrochalcona (1) buteina-4-metil éter; (2) isoliquiritigenina; (3) buteina; (4) isoliquiritigenina-2'-metil éter; (5) 2',4'-dihidroxicalcona; (6) isoliquiritigenina-4-metil éter; (7) 4-hidroxi-2',4'-dimetoxicalcona. (1) isopropil O- β-(6'-O-galoil)-glucopiranosideo; (2) etil O- β-(6'-O-galoil)-glucopiranosideo; (3) 3, 4, 5-trimetoxifenil-(6'-O-galoil)-O- β-D-glucopiranosideo; (4) 3, 4, 5-trimetoxifenil- β-D-glucopiranosideo; (5) ácido gálico; (6) metil galato; (7) etil galato; (8) ácido protocatecuico; (9) ácido 3, 5-dimetoxi-4-hidroxibenzóico; (10) erigeside C; (11) ácido glucosiringico.	WU <i>et al.</i> , 2009a WU <i>et al.</i> , 2009b ZHAO <i>et al.</i> , 2011
<i>B. guianensis</i>	casca do caule	(1) β -Sitosterol; (2) estigmasterol; (3) 3-O- β -glucopiranosil- β -sitosterol; (4) 3-O- β -glucopiranosil-stigmasta-5,22-dieno; (5) 49-hidroxi-7-metoxiflavana; (6) lapachol.	VIANA <i>et al.</i> , 1999

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
		(22) (2S)-Liquiritigenina; (23) (ZS)-Liquiritigenina 7-metil éter; (24) (2S)-Liquiritigenina 4'-metil éter; (25) (2S)-7,4'-Dihidroxi flavana; (26) (2S)-4'-Hidroxi-7-metoxiflavana; (27) (2S)-7,3'-Dimetoxi-4'hidroxiflavana; (28) (2S)-3',4'-Dihidroxi-7-metoxiflavana; (29) (2S)-7,4'-Dihidroxi-3'-metoxiflavana; (30) Obtustirena; (31) 5,7-Dihidroxicromona; (32) (2R,3R)-3-O-Galoilepicatequina; (33) estigmast-4-en-3-ona; (34) estigmast-4-en-3,6-diona; (35) Alcanos [Me(CH ₂) _n CH ₂ OH] n=20→26; (36) ácido Hexadecanóico; (37) ácido cinâmico; (38) Cinnamoil - β-D-glucose; (39) Siringaresinol; (40) (7S,8R,8'R)-5,5'-Dimetoxilariciresinol; (41) ω-hidroxi propioguaiacona; (42) Éster metílico do ácido (E) 4-hidroxicinâmico; (43) Éster metílico do ácido (E) 4-Hidroxi-3-metoxicinâmico; (44) Éster metílico do ácido (E) 4-Hidroxi-3-metoxibenzóico; (45) Éster metílico do ácido 3,4-dihidroxibenzóico; (46) ω-Hidroxi propioguaiacona diacetato	
<i>B. megalandra</i>	folhas	(1) quercetina; (2) kampferol (3) astilbina; (4) quercetina 3-O-α-ramnosídeo; (5) kampferol 3-O-α-ramnosídeo; (6) quercetina 3-O-α-arabinosídeo; (7) quercetina 3-O-α-(2''-galloyl) ramnosídeo, (8) kampferol 3-O-α-(2''-galloyl) ramnosídeo.	ESTRADA <i>et al.</i> , 2005
	folhas	(1) quercetina 3-O-α-(2''-galloyl) ramnosídeo	GONZALEZ-MUJICA <i>et al.</i> , 2005
	folhas	(1) kampferol 3-O-α-ramnosídeo; (2) quercetina 3-O-α-ramnosídeo, (3) kampferol 3-O-α-(2''-galloyl)ramnosídeo.	RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2010
<i>B. microstachya</i>	folhas	(1) metil galato; (2) kampferol 3-O-ramnosil; (3) quercitrina; (4) miricitrina. (1) kampferol; (2) quercetina; (3) miricitrina	MEYRE-SILVA <i>et al.</i> , 2001. DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002 continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
	folhas	(1) vitexina; (2) hexatriacontano; (3) galato de metila.	BIANCO; SANTOS, 2003
	folhas	(1) quercitrina.	GADOTTI <i>et al.</i> , 2005
<i>B. monandra</i>	folhas	(1) quercetina-3-O-rutinosídeo; (2) quercetina.	ADEROGBA; OGUNDAINI; ELOFF, 2006
	folhas	(1) quercetina-3,7-O-diramnosídeo.	MENEZES <i>et al.</i> , 2007
<i>B. platypetala</i>	folhas	(1) ácido palmítico; (2) kaempferitirina; (3) quercitrina; (3) Fitol; (4) gama-sitosterol; (5) vitamina E; (6) esqualeno; (7) estigmasterol; (8) gama sitosterol; (9) (-) lolioldo; (10) neofitadieno; (11) 3-eicosine; (12) 1 eicosano; (13) ácido esteárico; (14) etil linoleato; (15) ácido hexadecanóico; (16) 2-hidroxi-1(hidroximetil) etilester; 2-Dodecanol,o-(trimetilsilil) éter(1-dodecanol); (17) ácido hexadecanoico 2-hidroxi-1-(hidroximetil) etilester (18) ácido Hexadecanóico,15 (trimetilsilil) oximetilester(ácido palmítico); (19) heneicosano, 11-(1-etilpropil); (20) octacosano; (21) tetracosano, 11-decil; (22) hexatriacontano; (23) tritetracontano; (24) tetratetracontano; (25) ácido nona hexacontanóico.	SANTOS <i>et al.</i> , 2012a
<i>B. purpurea</i>	flores	(1) quercetina; (2) isoquercetrina; (3) astragalina; (4) ácido tártarico.	RAMACHAN DRAN; JOSHI, 1967
	sementes	(1) 2,3,6-tri-O-metil-o-galactose; (2) 2,3,5 tri -O-metil-L-arabinose.	BHARTIYA <i>et al.</i> , 1979 continua

continuação			
ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
	sementes	(1) 1-[4-[(4-O- β -L-arabinopiranosil- β -D-galactopiranosil)oxi]-3-hidróxifenil]-3-fenil)-2-Propen-1-ona	BHARTIYA; GUPTA, 1981
	cerne	(1) 6'-(β -sitosteryl-3-O- β -glucopyranosidyl) tetraeicosanoate (2) 1,2,3-propanotriol (3) ácido hexadecanóico (4) estigmasterol (5) hexadecanoato de metila (6) quercetina (7) ácido-4-hidróxi-3-metóxi-benzóico (8) 1-monooctadecanoilglicerol (9) taxifolin (10) bornesitol (11) kampfferol (12) lupeol (13) (2S)-eriodictiol (14) lupenona (15) octacosanal (16) 4-hidróxi-2-metóxiifenil- β -D-glucopiranosídeo (17) 5,7-diidróxicromona (18) tetracosanal	KUO; YEH, 1997
	casca	(1) 5,7-diidróxi-6,8-dimetil-2-fenil-4H-1-benzopiran-4-ona (2) ácido oleanóico (3) crisina (4) (3 β)-[[6-O-(1-oxohexadecil)- β -D-glucopiranosil]oxi]-Estigmast-5-en-7-ona (5) (3 β)-hidróxi-Estigmast-5-en-7-ona (6) 3(β)-[[2,3,4-tri-O-acetil-6-O-(1-oxohexadecil)- β -D-glucopiranosil]oxi]-estigmast-5-en-7-ona.	KUO; CHU; CHANG, 1998b
	cerne	(1) 6-(3''-Oxobutil) taxifolin	KUO; YEH; HUANG, 1998a
	sementes	(1) buteina 4'-O- β -L-arabinopiranosil-O- β -D-galactosídeo.	BHARTIYA <i>et al.</i> , 1979.
	sementes	(1) 3,4-dihidroxichalcona 4-O- β -L-arabinopiranosil-O- β -D-galactopiranosídeo.	BHARTIYA; GUPTA, 1981
	caule	(1) 5,6-Dihydroxi-7-metoxiflavona 6-O- β -D-xilopiranosídeo.	YADAVA; TIPATHI, 2000

continua

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	continuação FONTE
		(1) luteína; (2) β -sitosterol; (3) fitil ésteres.	RAGASA; HOFILEÑA; RIDEOUT, 2004
	folhas	(1) [3',4'-dihidroxi-6metoxi-7,8-furano-5', 6'-monometilaliloxi]-5-C-5-biflavonil; (2) (4'-hidroxi-7metil 3-C- α -L-ramnopiranosil)-5-C-5-(4'-hidroxi-7metil 3-C- α -D-glucopiranosil.	YADAV; BHADORIA, 2005
	folhas, caules e vagens, raízes	(1) pacharina (2) bauhiniastatinas 1, 2, 3 e 4 (3) acetato- Bauhiniastatina 1	PETTIT <i>et al.</i> , 2006
	sementes	(1) campesterol ; (2) etigmasterol; (3) β -sitosterol; (4) Δ 5-avenasterol; (5) Δ 7-stigmastenol; (6) Δ 7-avenasterol.	RAMADAN <i>et al.</i> , 2006
	raízes	(1) 5-(2-feniletil)-1,3-benzenodiol; (2) 3-metóxi-5-(2-feniletil)-fenol; (3) 4,6-dimetóxi-2-[2-(2-hidróxifenil)etil]-fenol (4) 2-fenil-6,8-dimetil-5,7-diidroxi-2,3-diidro-4H-1-benzopirano-4-ona; (5) (-)-strobopinina; (6) 5-metóxi-3-[2-(hidróxifenil)etil]-fenol; (7) 2-[2-(3,5-dimetóxiifenil)etil]-fenol; (8) 7-metil-8-metóxi-10,11-diidro-dibenz[b, f]oxepina-1,6-diol; (9) 7-metil-6-metóxi-10,11-diidro- dibenz[b, f]oxepina-1,8-diol; (10) 3-metil-2,4-dimetóxi-10,11-diidro-dibenz[b, f]oxepina-1,9-diol; (11) 7-metil-6,9-dimetóxi-10,11-diidro-Dibenz[b, f]oxepina-1,8-diol; (12) 3-metil-4-metóxi-10,11-diidro- dibenz[b, f]oxepina-2,10-diol; (13) 3-metil-2-Metóxi-9-hidróxi-10,11-diidro-dibenz[b, f]oxepina-1,4-diona; (14) 3-metil-2-metóxi-8-hidróxi-10,11-diidro-dibenz[b, f]oxepina-1,4-diona; (15) 4,6-dimetóxi-2-[(2S)-2,3-diidro-2-benzofuranil]-fenol; (16) 3,4-diidro-3'-spiro[2H-1-benzopirano-2,1'-[3]ciclohexeno-2',5'-diona; (17) 2-metil-3-metóxi-5-[2-(2-hidróxifenil)etil]-Fenol.	BOONPHONG <i>et al.</i> , 2007

continua

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	continuação
			FONTE
	folhas	(1) ácido metil éster hexadecanóico; (2) ácido hexadecanóico; (3) ácido 9,12-octadecadienóico (Z,Z) de metilol (4) ácido 9,12,15-octadecatrienóico de metilo; (5) fitol; (6) β-tocoferol; (7) acetato ergost-5-en-3-ol; (8) acetato de vitamin E (9) estigmast-5-en-3-ol (10) lupeol (11) lanosterol	NEGI; DAVE; AGARWAL, 2012
	casca do caule	(1) ácido mirístico; (2) ácido octadecanóico; (3) ácido 9,12-octadecadienoico; (4) isopropil-24-metil-pentacosanoato; (5) estigmasterol; (6) β-amyrin; (7) β-Sitosterol; (8) lupeol; (9) etil 9,12- hexadecadienoato.	JOSHI; DESAI; BHOBE, 2013
<i>B. racemosa</i>	casca do caule	(1) β-amirina; (2) β- sitosterol, (3) octosano.	PRAKASH; KHOSA, 1976.
	cerne	(1) pacharina: 1,7-dihidroxi-3-methoxi-2-metil-dibenzo(2,3-6,7) oxepina	ANJANEYULU ; REDDY; REDDY, 1984
	cerne	(1) racemosol	CAMERON; ROE, 1986.
	cerne	(1) racemosol; (2) racemosoldiacetato; (3) racemosoldimetileter.	ANJANEYUL U <i>et al.</i> , 1986
	raíz	(1) de-O-metilracemosol (1) kampferol; (2) quercetina; (3) 3-O-ramnosídeo-kampferol; (4) quercitrina	PRABHAKA <i>et al.</i> , 1994 EL- HOSSARY <i>et al.</i> , 2000
	casca da semente	(1) 3-O-β-galactosídeo-kampferol (2) éter-4'- O- metil-Kampferol (3) 3-O- β -galactosídeo-quercetina (4) éter-3,4',5,7-tetrametil-quercetina	JAIN; SRIVASTAV A, 2001

continua

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	continuação
			FONTE
	raízes	(1) lupeol; (2) β -sitosterol; (3) betulina.	JAIN; ALAM; SAXENA, 2002a.
	casca da semente	(1) 7- β -D-glucopiranosídeo-apigenina (2) éter-3',7-dimetil-diidroquercetina (3) éter-3',7-dimetil-eriodictiol	JAIN; PATHAK; SRIVASTAVA, 2002b
	raíz	(1) 1,7,8,12b-Tetrahydro-2,2,4-trimetil-10-metoxi-2Hbenzo [6,7] ciclohepta[1,2,3-de][1]benzopiran-5,9-diol (racemosol); (2) 1,7,8,12b-Tetrahydro-2,2,4-trimetil-2H-benzo [6,7] ciclohepta[1,2,3-de][1]benzo-piran-5,10,11-triol; (3) 1,7,8,12b-Tetrahydro-2,2,4-trimetil-2H-benzo [6,7] ciclohepta[1,2,3-de][1]benzopiran-5,9,10-triol (de-O-metil racemosol).	JAIN <i>et al.</i> , 2008
	folhas	(1) (2S)-1, 2-di-O-linolenoyl-3-O- α -galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)-O- β -galactopiranosil glicerol; (2) (2S)-1-O-linolenoil-2-O-palmitoil- 3-O- α -galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)-O- β -galactopiranosil glicerol; (3) (2S)-1-O-oleoil-2-O-palmitoil-3-O- α -galactopiranosil-(1 \rightarrow 6)-O- β -galactopiranosil glicerol; (4) (-) epiafzelechin; (5) (-)-epicatechin; (6) (-) catechin; (7) ácido protocatecólico.	SASHIDHARA <i>et al.</i> , 2012
	Casca da raíz	(1) n-tetracosano; (2) β -sitosteril estearato; (3) ácido eicosanóico; (4) estigmasterol; (5) β -sitosterol; (6) racemosol; (7) octacosil ferulato; (8) de-O-metil racemosol; (9) lupeol; (10) 1,7,8,12b-tetrahydro-2,2,4-trimetil-2H-benzo[6,7]ciclohepta [1,2,3-de] [1] benzopirano-5,10,11 triol.	JAIN <i>et al.</i> , 2013
<i>B. retusa</i>	casca	(1) 3-O- β -galactosídeo-quercetina; (2) rutina. (1) 2-(4-Hidroxifenil)-7-[(6-deoxi-2-O- β -D-galactopiranosil- α -Lmanopiranosil) óxi]-4H-1-benzopirano-4-ona	TIWARI; MASOOD; RATHORE, 1978 YADAVA; JAIN, 2003b

continua

continuação			
ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
	sementes	(1) 2,6-di(4',5'-dihidroxifenil)-3,7-dioxabicyclo[3.3.0]octano-1-hidroxi-5-O-ramnopiranosídeo.	SEM WAL; SHARMA, 2011a
	sementes	(1) 1-O-β-D-glucopiranosil-9β,15-dihidroxi-5α,6βH-eudesma-3-ene-6α,12-olide; (2) 4'-hidroxi-7-metoxi flavana (3), β-sitosterol (4) estigmasterol.	SEM WAL; SHARMA, 2011b
<i>B. rufescens</i>	casca do caule	(1) 6-metoxi-7-metil-8-hidroxidibenzo[b,f]oxepin, (2) acetate de alfa-amirina; (3) beta-sitosterol 3-O-beta-D-xilopiranosídeo; (4) 4-(2'-Hidroxifenetil)-5-metoxi-2-metifenol; (5) menisdaurina; (6) sequoyitol.	MUHAMMAD, SIRAT, 2013b
<i>B. strychnifolia</i>	caule	(1) quercetina; (2) 3,5,7,3',5'-Pentahidroxi-flavanonol-3-O-α-L-ramnopiranosídeo; (3) 3,5,7-Trihidroxi-cromona-3-O-α-L-ramnopiranosídeo; (4) mistura de β-sitosterol e estigmasterol (5) 5,7,3',5'-Tetrahidroxiflavanona	YUENYONG SAWAD <i>et al.</i> , 2013
<i>B. scandens</i>		(1) 1-O-alkil glicerol	HAZRA; CHATTERJE E, 2008
<i>B. splendens</i>	caule	(1) bausplendina	LAUX; STEFANI; GOTTLIEB, 1985
<i>B. strychnifolia</i>	caule	(1) quercetina; (2) 3,5,7,3',5'-Pentahidroxi-flavanonol-3-O-α-L-ramnopiranosídeo; (3) 3,5,7-Trihidroxi-chromona-3-O-α-L-ramnopiranosídeo; (4) β-sitosterol; (5) estigmasterol.	YUENYONG SAWAD <i>et al.</i> , 2013.
<i>B. tarapotensis</i>	folhas	(1) 2,4-dihidroxi-2-(2-hidroxietil) ciclohex-5-en-1-ona; (2) ester cafeoil do ácido apiônico; (3) (-)-isolariciresinol 3-R-O-β-D-glucopiranosídeo; (4) (+)-1-hidroxipinoresinol 1-O-β-D-glucopiranosídeo (5) isoacteosídeo (6) luteolina 4-O-β-D-glucopiranosídeo (7) indol-3-ácido carboxílico.	BRACA <i>et al.</i> , 2001

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
	folhas	(1) ácido 3 β -hidroxi-urs-12-en-28-oico acid (ácido ursólico); (2) ácido 3 β -hidroxi-olean-12-en-28-oico (ácido oleanólico); (3) ácido 2 α ,3 β -dihidroxi-urs-12-en-28-oico (2 α -hidroxiursólico); (4) ácido 3-dihidroxi-olean-12-en-28-oico (ácido 2 α -hidroxioleanólico ou maslinico); (5) ácido 2 α ,3 α -dihidroxi-urs-12-en-28-oic; (6) ácido 2 α ,3 α -dihidroxiolean-12-en-28-oico; (7) ácido 2 α ,3 α ,23-trihidroxi-urs-12-en-28-oico; (8) ácido 2 α ,3 α ,23-trihidroxi-olean-12-en-28-oico.	SOSA <i>et al.</i> , 2002
<i>B. thoningii</i>	casca	(1) griffonilida	OKWUTE <i>et al.</i> , 1986
<i>B. unguolata</i>	folhas	(1) harmano; (2) 3-O metil-D-pinitol; (3) quercetina (4) quercetina arabinofuranosideo (5) quercitrina (6) eleagnina	MAIA NETO <i>et al.</i> , 2008
<i>B. uruguayensis</i>	folhas	(1) glicina; (2) serina; (3) ácido aspártico; (4) ácido L-glutâmico; (5) tirosina; (6) L-leucina; (7) colina; (8) metionina; (9) fenilalanina; (10) histidina; (11) valina; (12) treonina; (13) isoleucina; (14) β -sitosterol; (15) estigmasterol; (16) L-prolina; (17) glucosídeo- β -sitosterol; (18) campesterol; (19) afzelina; (20) hexacosanol; (21) quercitrina; (22) octacosanol; (23) heptacosano; (24) triacontanol; (25) heneicosano; (26) docosano; (27) octacosano; (28) nonacosano;	IRIBARREN; POMÍLIO, 1989

continua

continuação

ESPECIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
		(29) hentriacontano; (30) tricosano; (31) triacontano; (32) tetracosano; (33) estigmasta-3,5-dieno; (34) estigmasta-4,6-dien-3-ona; (35) ácido-(3 β)-estigmast-5-em-3-il- β -D-ribofuranosidurônico; (36) pentacosanol; (37) estigmasta-1,3,5-trieno.	
<i>B. vahlii</i>	flores	(1) quercitosídeo; (2) isoquercitosídeos; (3) rutosídeo; (4) kaempferolglicosídeos; (5) taxifolim ramnosídeo.	DURET; PARIS, 1977.
	folhas	(1) agathiflavona; (2) ácido betulínico; (3) campesterol; (4) quercetina; (5) isoquercetina; (6) β -sitosterol; (7) estigmasterol; (8) kaempferol; (9) quercetina 3-glicosídeo.	SULTANA <i>et al.</i> , 1985
	vagens	(1) metil 4-O-metilgalato; (2) metilgalato; (3) (+)-mopanol; (4) (+) catequina; (5) mopanol.	KUMAR; KRUPADAN AM, 1990.
<i>B. variegata</i>	flores	(1) kaempferol; (2) kaempferol-3-galactosídeo; (3) kaempferol-3-rhamno-glucosídeo; (4) 3-hidroxi-5, 7, 4'- trimetoxi flavonol.	RAHMAN; BEGUM; 1966
	casca da raiz	(1) (2S)-5,7-dimetoxi-3',4'-metilenedioxiflavanona; (2) 5,6-dihidro-1,7-dihidroxi-3,4-dimetoxi-2-metildibenzoxepina. (3) quercetina 7-metil eter (4) kampferol 7,4'- dimetil eter 3-O- β -D – glucopiranosídeo (5) kampferol 3-O- β -D-glucopiranosídeo	REDDY <i>et al.</i> , 2003
		(1) N-fenil-2-naftalenoamina; (2) girinimbina; (3) mahanimbina.	ZHAO <i>et al.</i> 2004a

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
		(1) 1,1,3a, 5-tetrametil-1,1a,2,3,3a, 11-hexaidro-[3,2-a]carbazoleciclobuta[4,5]-ciclopenta[5,6]-pirano]; (2) β -Sitosterol; (3) fisciona; (4) friedelina; (5) estigmast-4-en-3-ona; (6) estigmastan-3-ona; (7) (3 β)-3-Hidr3xi-Stigmastan-6-ona; (8) (24S)-24,25-diidr3xi-9,19-ciclolanostan-3-ona; (9) (24R)- 24,25-Diidr3xi-9,19-ciclolanostan-3-ona;	ZHAO <i>et al.</i> 2004b
	caule	(1) 2,7-dimetoxi-3-metil-9,10-dihidrofenantreno-1,4-diona (bauhiniona); (2) 3,4-diidr3xi-benz3ico.	ZHAO <i>et al.</i> 2005a
		(1) epicatecol (2) progalina A; (3) ester-etil-3,4-diidr3xi-Benz3ico; (4) squisandrisida	ZHAO <i>et al.</i> 2005b
		(1) rutina; (2) daucosterol; (3) narcissina; (4) luteolina; (5) 3-metil-quercetina; (6) 3-O- β -D-glucofuranos3ideo-quercetina	EL-DONDAITY <i>et al.</i> , 2005
		(1) astragalina; (2) 3-O-ramnos3ideo-Kampferol; (3) 1-(2-hidr3xi-4,6-dimet3xifenil)-3-(1,3-benzodioxol-5-il)-2-propen-1-ona;	MAHESWARA <i>et al.</i> , 2006
		(1) 12,13-Heptatriacontanodiol; (2) 15-Dotetraconten-9-ol;	SINGH; PANDEY, 2006
		(1) bauhiniona	ZHAO; CUI; SUN, 2007
	partes a3reas n3o lenhosas	(1) kampferol; (2) ombu3ina; (3) kampferol 7,4 3ter dimetil-3-O- β -D-glicopiranos3ideo; (4) kampferol 3-O- β -D-glicopiranos3ideo; (5) isorhamnetina 3-O- β -D-glicopiranos3ideo; (6) hesperidina; (7) cafeato triterpeno; (8) 3 β -trans-(3,4-dihidroxicinamoiloxi) urs-12-en-28-3ico.	RAO <i>et al.</i> , 2008

continua

continuação

ESPÉCIE	PARTE UTILIZADA	COMPOSTO	FONTE
	folhas	(1) quercetina; (2) 3,3'-dimetoxi quercetina; (3) 3,3',6-trimetoxi quercetina (4) ácido cafeico; (5) ácido ferulico; (6) quercetina 3-O-β-D- ⁴ C1-glucopiranosídeo; (7), quercetin 3-O-β-D- ⁴ C1-galacturonopiranosídeo; (8), quercetina 3-O-α-L- ¹ C4-ramnopiranosil-(1" ^{'''} →2 ^{''})-O-β-D- ⁴ C1-glucopiranosídeo; (9) ácido 23-hidroxi-3α-[O-α-L- ¹ C4-ramnopiranosil-(1" ^{''} →4 ['])-O-α-L- ⁴ C1-arabinopiranosil-oxi]olean-12-en-28-oico-O-α-L- ¹ C4-ramnopiranosil-(1" ^{''''} →4 ^{''''})-O-β-D- ⁴ C1-glucopiranosil-(1" ^{''''} →6 ^{''''})-O-β-D- ⁴ C1-glucopiranosil éster;	MOHAMED; MAMMOUD; HAYEN, 2009
	folhas	(1) α- amirina; (2) caprilato; (3) lupeol; (4) nor-α-amirina; (5) 3β, 28-di hidroxil olean-12-enil-palmitato.	SAHAA <i>et al.</i> , 2011
	folhas	(1) D-pinitol (3-O-methyl D-chiro inositol).	DEWANGAN; VERMA; KESHARWANI, 2014

Fonte: A autora (2014)

conclusão

2.3 ESPÉCIE *Bauhinia unguolata* Linné

A *Bauhinia unguolata* Linné além dos nomes populares comuns ao gênero, também é popularmente conhecida como mororó, sendo *Bauhinia macrostachya* Benth., a sinonímia mais frequentemente encontrada (VAZ, 2014). Outras sinonímias também são utilizadas tais como: *Bauhinia benthamiana* Taub., *Bauhinia cavanillei* Millsp., *Bauhinia galpinii* var. *ungulata* L., *Bauhinia inermis* (Cav.) Pers., *Bauhinia inermis* Forssk., *Bauhinia inermis* Perr., *Bauhinia unguiculata* Sesse & Moc, *Pauletia inermis* Cav., *Cansenia unguolata* (L.) Raf. e *Pauletia unguolata* (L.) A.Schmitz (THE PLANT LIST, 2013).

No QUADRO 1 é apresentada a classificação da espécie em estudo de acordo com Cronquist e *Angiosperm Phylogeny Group* APG III.

CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA			
CRONQUIST (1981)		Angiosperm Phylogeny Group APG III (2009)	
DIVISÃO	Magnoliophyta	CLADO	Eurosídeas I
CLASSE	Magnoliopsida (dicotiledoneas)	ORDEM	Fabales
SUBCLASSE	Rosidae	FAMÍLIA	Fabaceae
ORDEM	Fabales	GÊNERO	<i>Bauhinia</i> L.
FAMÍLIA	Fabaceae	ESPÉCIE	<i>Bauhinia unguolata</i> L.
GÊNERO	<i>Bauhinia</i> L.		
ESPÉCIE	<i>Bauhinia unguolata</i> L.		

QUADRO 1 - ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DE *Bauhinia unguolata* L.
Fonte: A autora (2014)

Pouco estudada, a literatura reporta o uso de *B. unguolata* por índios Tapebas no Ceará, por sua ação hipoglicemiante (MORAIS *et al.*, 2005) no tratamento do diabetes e para diarreia, ambos na forma de infusão (BIESKI *et al.*, 2012). Recente trabalho que investigou o potencial de inibição da acetilcolinesterase demonstrou resultados preliminares promissores com o uso do extrato hexano da flor de *B. unguolata* no tratamento da doença de Alzheimer (SANTOS *et al.*, 2011).

A *Bauhinia unguolata* é uma espécie nativa no Brasil com distribuição geográfica ilustrada na FIGURA 1 (marcação em vermelho no mapa *mundi*). Em nível mundial, observa-se a presença centralizada no Brasil, principalmente nas regiões (FIGURA 1 - áreas verdes no mapa ampliado) Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), Nordeste (Ceará, Maranhão, Piauí), Centro-Oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato G), Sudeste (Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo), Sul (Paraná), com domínios fitogeográficos principalmente na Amazônia, Cerrado, Mata Atlântica (VAZ, 2014).

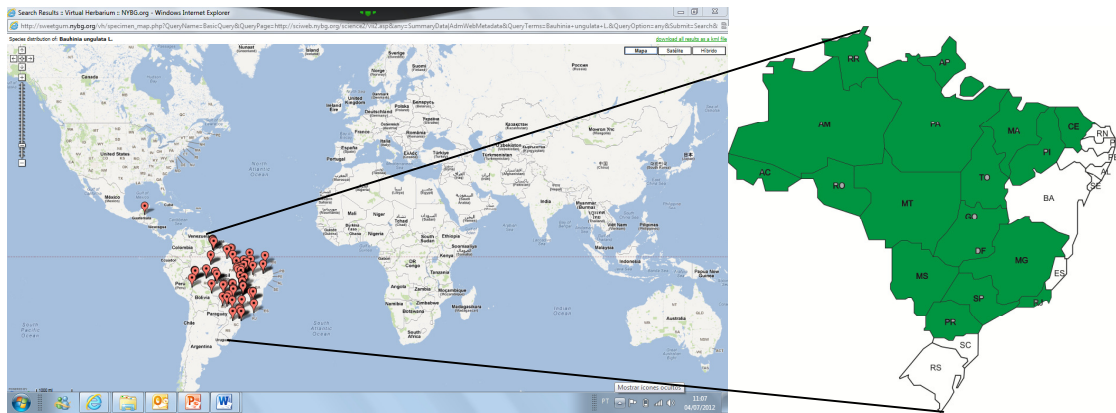


FIGURA 1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DA ESPÉCIE *Bauhinia unguolata* L.
 FONTE: FLORA DO BRASIL (2014)

A *Bauhinia unguolata* apresenta-se como arbusto, arvoreta ou subarbusto que pode variar de 2-4 m de altura (DUTRA *et al.*, 2009), entretanto alguns autores reportam que a planta pode chegar até 10 metros (MENA-ALI; ROCHA, 2005). Apresenta flores actinomorfas, noturnas, brancas e nectaríferas. É considerada espécie cuja polinização é noturna e realizada por morcegos que são atraídos pelas flores com forte odor, chamada de quiropterófila. Geralmente florescem no período de seca (abril a agosto) sendo que o néctar dessas plantas parece ser essencial para os morcegos, pois nesse período há escassez de outros alimentos (DUTRA *et al.*, 2009).

É uma angiosperma cuja principal característica é a existência de um fruto que envolve e protege a semente. A frutificação da planta é verificada entre os meses de julho a outubro (DUTRA *et al.*, 2008). As folhas são unifolioladas, bilobadas (FIGURA 2), de tamanho aproximado a 1,2-3,3×2,2-5,8 cm, 9-11-nervuras, estípulas com 2 mm de comprimento, lanceoladas; folíolos divididos de um terço à metade, lobos sub-reniformes a elípticos, margem inteira, face abaxial puberulenta, com tricomas glandulares, face adaxial glabra; nectário rudimentar. Inflorescência pseudoracemosa, pluriflora, terminal; cálice de 5-9,3 cm de comprimento, tubuloso, ferrugíneo, puberulento externamente; corola 2,3-3,8 cm de comprimento, pétalas brancas, linear-lanceoladas; estames heterodínamos com 3,8-6 cm de comprimento, filetes irregularmente unidos na base formando uma coluna, anteras de 0,8-1,2 cm de

comprimento; estaminódios ausentes; ovário com 1,5 cm de comprimento, estipitado, puberulento, estilete com 3,3 cm de comprimento, glabro, estigma oblíquo, clavado. Legume planocompresso, 13-15,5×1,5 cm, apiculado, puberulento; 9-14 sementes, 1×0,5 cm, obovadas, esverdeadas (DUTRA *et al.*, 2008)



FIGURA 2 – FOLHA BILOBADA DE *Bauhinia unguolata* L., FACE ABAXIAL.
FONTE: A Autora (2011)

A FIGURA 3 ilustra o formato do ramo (a), do contorno foliar (b), detalhe do indumento na face inferior da folha (c) e fruto (d).

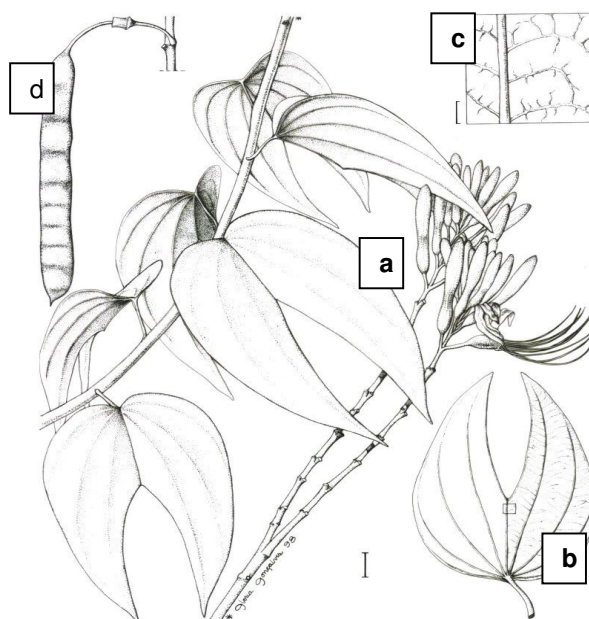


FIGURA 3 - *Bauhinia unguolata* var. *ungulata*.

FONTE: VAZ (2003)

Nota: a, ramo; b, contorno foliar; c, detalhe do indumento na face inferior da folha; d, fruto.

Um estudo preliminar realizado por Maia Neto *et al.* (2008) demonstrou a presença de flavonoides, alcaloides e um poliol nas folhas da *B. unguolata* L. A estrutura química dos compostos isolados encontram-se ilustradas na FIGURA 4.

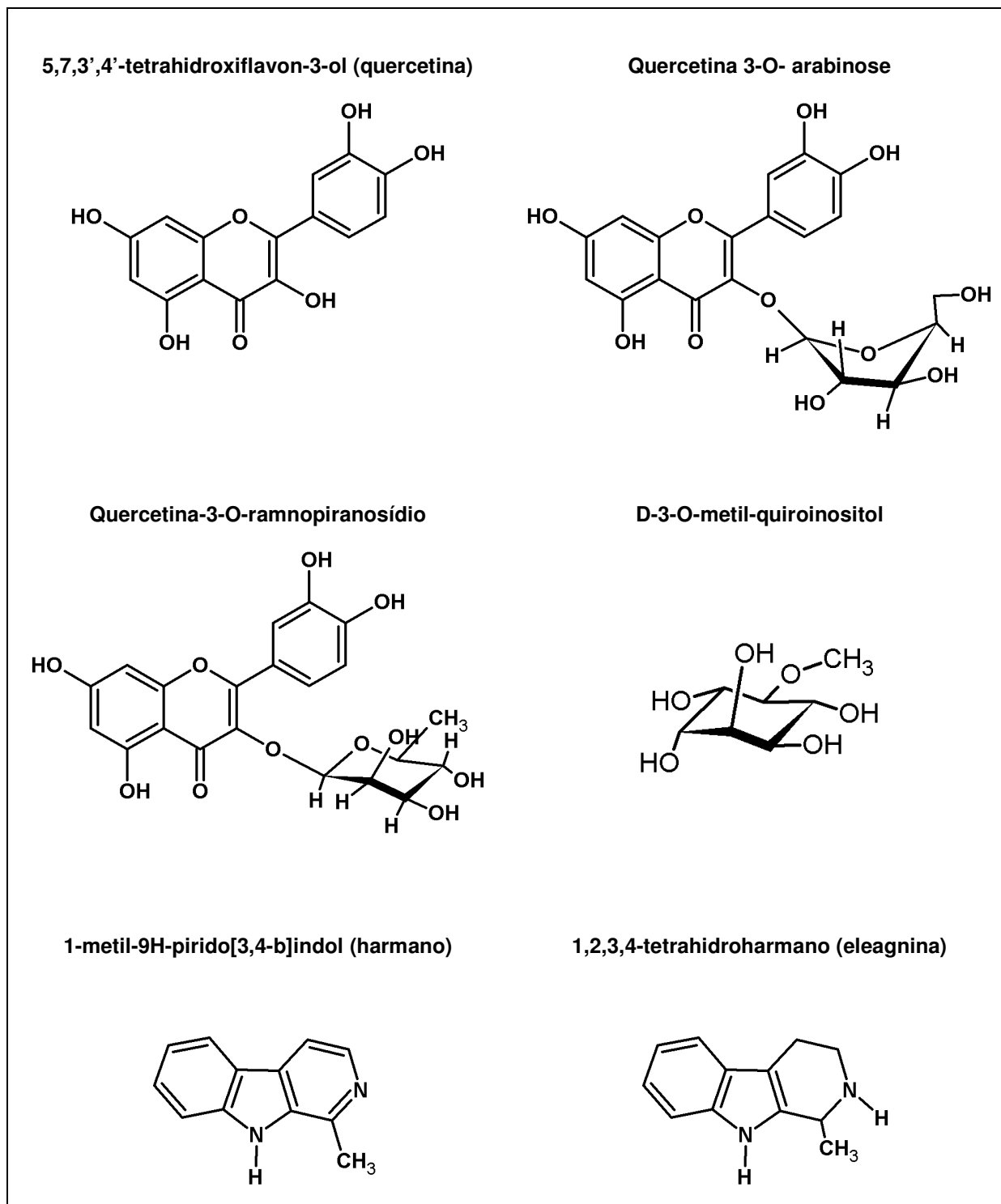


FIGURA 4 – ESTRUTURA QUÍMICA DOS COMPOSTOS ISOLADOS DE *Bauhinia unguolata* L.
 Fonte: A Autora (2014)

2.3 FLAVONOIDES COMO ANTIOXIDANTES

O termo flavonoide é derivado da palavra latina "*Flavus*", que significa amarelo, porém são metabólitos secundários do vegetal, encontrados também nas cores vermelho, azul e roxo ou até mesmo incolor (WINKEL-SHIRLEY, 2001) responsáveis pelo aspecto colorido das folhas e flores, podendo estar presentes em outras partes das plantas (VOLP *et al.*, 2008).

São pigmentos naturais com principal função nos vegetais de proteção contra danos produzidos pelos raios ultravioletas e visível, poluição ambiental (MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002) além da proteção contra insetos, fungos, vírus e bactérias, atração de animais com finalidade de polinização, antioxidantes, controle da ação de hormônios vegetais, agentes alelopáticos e inibidores de enzimas (ZUANAZZI, MONTANHA, 2003).

Amplamente distribuídos no reino vegetal, principalmente nas angiospermas, são encontrados em uma grande variedade de alimentos, frutas, sementes, flores e folhas (WILHELM FILHO, SILVA, BOVERIS, 2001). Quanto a origem, são formados a partir dos aminoácidos aromáticos fenilalanina e tirosina e também de unidades de acetato. A fenilalanina e a tirosina dão lugar ao ácido cinâmico e o ácido parahidroxicinâmico que se condensa com a unidade de acetato originando a estrutura cinamol dos flavonoides. Posteriormente são formados os derivados glicosilados e sulfatados (MARTÍNEZ-FLÓREZ *et al.*, 2002).

Engloba um grupo de compostos polifenólicos complexos que podem ser encontrados em diversas formas estruturais, porém a maioria apresenta uma estrutura comum caracterizada por dois anéis aromáticos identificados como A e B e um heterocíclico oxigenado, o anel C (WILHELM FILHO, DA SILVA, BOVERIS, 2001). Sua estrutura química baseia-se portanto em um esqueleto de 15 carbonos (C₆-C₃-C₆), com um anel de cromano ostentando um segundo anel na posição 2, 3 ou 4. Os átomos de carbono recebem uma numeração com números ordinários para o anel A e C e os mesmos números seguidos por uma linha (') para o anel B, como demonstrado na FIGURA 5 (ZUANAZZI, MONTANHA, 2001).

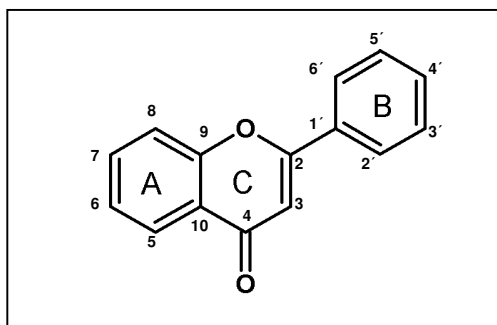


FIGURA 5 - ESTRUTURA BÁSICA DOS FLAVONOIDES

Os flavonoides de origem natural são geralmente oxigenados e um grande número encontra-se conjugado com açúcares (forma glicosilada ou heterosídeos). São denominados *O*-heterosídeos quando a ligação com o açúcar ocorre por intermédio de uma hidroxila e *C*-heterosídeos quando a ligação se dá por um átomo de carbono (ZUANAZZI, MONTANHA, 2001). O sítio de glicosilação preferido é na posição 3, e com menor frequência na posição 7, e a glicose o carboidrato mais comumente encontrado (WILHELM FILHO, DA SILVA, BOVERIS, 2001). Quando o flavonoide não contém glicosídeo (açúcar) é chamado de aglicona ou genina, e representa a forma livre (ZUANAZZI, MONTANHA, 2001).

Uma grande variedade de flavonoides são conhecidos e as diferenças entre eles resultam de uma variação no número e posição dos grupamentos hidroxilas, por modificações dos núcleos, e pelo grau de metilação e glicosilação (WILHELM FILHO, DA SILVA, BOVERIS, 2001). Podem ser agrupados em classes de acordo com suas características químicas e biossintéticas. Algumas classes e respectivas estruturas químicas básicas podem ser visualizadas na FIGURA 6.

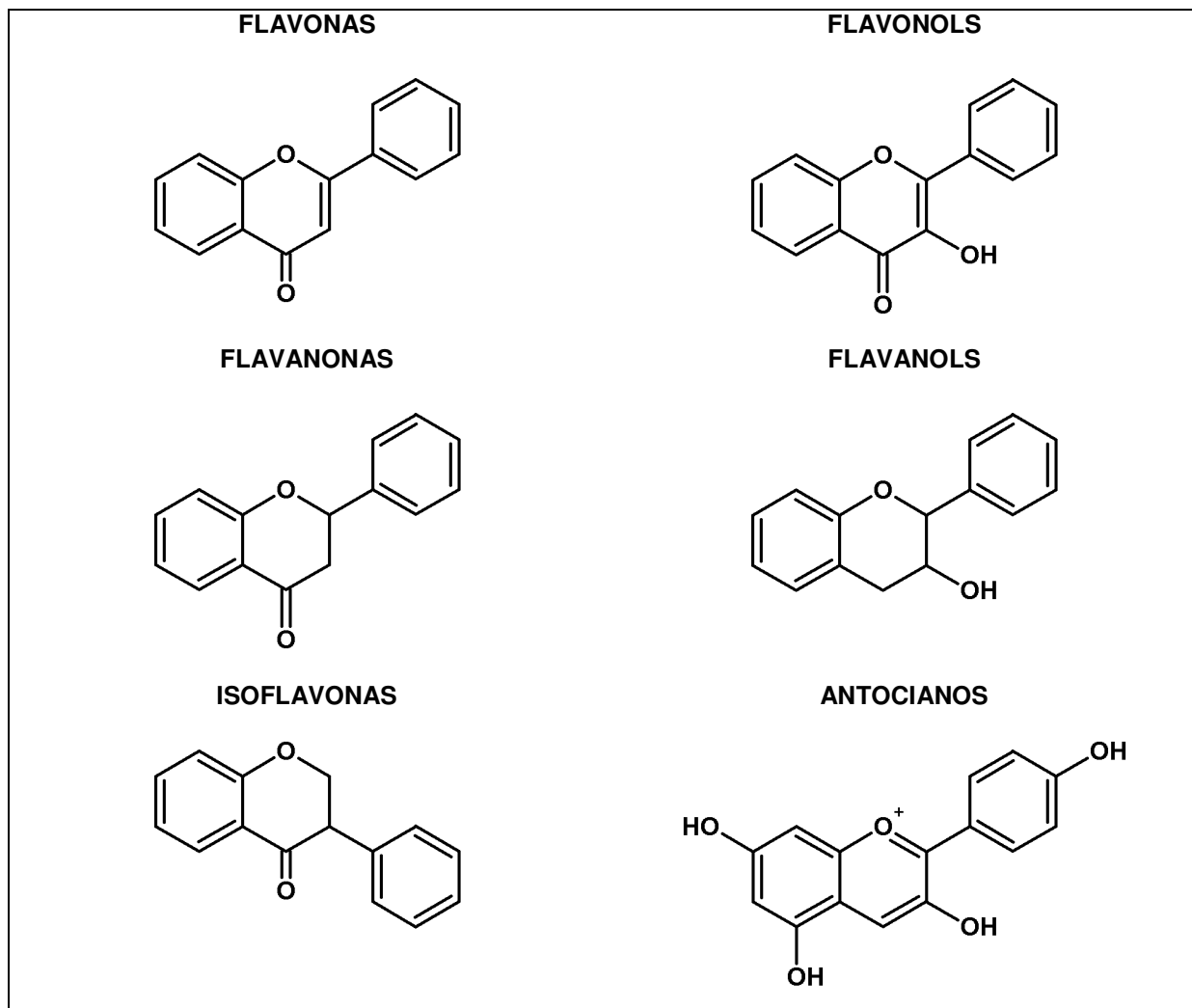


FIGURA 6 – DIVISÃO DOS FLAVONOIDES DE ACORDO COM A ESTRUTURA QUÍMICA BÁSICA
 Fonte: A Autora (2014)

Os flavonoides são capazes de afetar vários sistemas enzimáticos e funções biológicas dos mamíferos. Muitos deles tem demonstrado atividades anti-trombótica, antibacteriana, antifúngica, antiviral, antialérgica, anti-inflamatória, vasodilatadora, anticâncer, anti-isquêmica, inibidora da peroxidação lipídica e agregação plaquetária e redução da permeabilidade e fragilidade capilar (FORMICA, REGELSON, 1995; ZUANAZZI, MONTANHA, 2001; WILHELM FILHO, DA SILVA, BOVERIS, 2001) sendo a capacidade antioxidante uma das mais estudada entre as suas funções biológicas.

Antioxidantes são substâncias capazes de retardar as reações de degradação oxidativa, ou seja, reduzem a velocidade da oxidação. A oxidação é parte fundamental da vida aeróbica e do nosso metabolismo e, assim, as espécies reativas de oxigênio (ERO) são produzidas naturalmente ou por alguma disfunção biológica (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006).

A geração destas espécies reativas, conhecidas vulgarmente como radicais livres, constitui um processo contínuo e fisiológico que ocorre, normalmente, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma, e que cumprem funções importantes como a de mediadores para a transferência de elétrons nas várias reações bioquímicas, e em proporções adequadas, possibilita a geração de energia (ATP); fertilização do óvulo; ativação de genes; regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, síntese de substâncias biológicas importantes e participação de mecanismos de defesa durante o processo de infecção (fagocitose) (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006; BARBOSA *et al.*, 2010). No entanto, seu excesso resulta em efeitos prejudiciais, como exemplo a peroxidação dos lipídios de membrana e agressão às proteínas dos tecidos, às enzimas, carboidratos e DNA (AMIC' *et al.*, 2014). Consequentemente, podem estar relacionados à várias patologias, tais como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, câncer, podendo ser a causa ou o fator agravante do quadro geral (BARREIROS, DAVID, 2006).

A formação destas EROs ocorre portanto pela redução do O_2 formando os radicais superóxido (O_2^\bullet), hidroxila (OH^\bullet) e, ainda, peróxido de hidrogênio (H_2O_2), processo que ocorre mediante reações específicas, catalisadas por enzimas e com a participação dos íons ferro e cobre. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2), é uma espécie, não radicalar, com alto potencial reativo, e pela participação na geração do OH^\bullet tem potencial ação deletéria, pois pode alterar qualquer estrutura celular que se encontre próxima. Além disso, tem vida longa e pode atravessar membranas celulares apresentando-se potencialmente tóxico para as células (BARBOSA *et al.*, 2010).

O excesso destas EROs no organismo é combatido por antioxidantes que podem prevenir a formação, impedir a ação ou favorecer o reparo e a reconstituição das estruturas biológicas lesadas. Esse sistema é dividido em enzimático (Superóxido

dismutase SOD, Sistema Glutationa Peroxidase GPX, Glutationa Redutase GR, Catalase CAT) e não-enzimático. No último caso, é constituído por grande variedade de substâncias antioxidantes, entre elas os flavonoides (BARBOSA *et al.*, 2010) que podem ser obtidos da alimentação.

Os flavonoides pode prevenir lesões causadas por radicais livres por vários mecanismos, entre eles, (1) o sequestro direto de espécies reativas de oxigênio (ROS) ao doar átomos de hidrogênio, (2) a ativação de enzimas antioxidantes, (3) quelando cobre e ferro e com isso eliminando o fator causal da oxidação, (4) interagindo com o radical α -tocoferol presente na membranas e com isso retardando a oxidação, (5) inibindo enzimas responsáveis pela produção do radical superóxido tais como xantina oxidase e proteína Kinase C, além da cicloxigenase, lipoxigenase, NADPH oxidase; (6) redução do estresse oxidativo causado pelo óxido nítrico; (7) aumento dos níveis de ácido úrico; (8) aumento das propriedades de antioxidantes de baixo peso molecular (AMIC' *et al.*, 2014).

Agem desta forma, pois quimicamente, os flavonoides são doadores de elétrons, com estrutura química conjugada em anel β , rica em grupos hidroxilas, que tem potenciais ações antioxidantes por reagirem e inativarem ânions superóxido, oxigênio singlete, radicais peróxido de lípidios e/ou estabilizarem radicais livres envolvidos no processo oxidativo através da hidrogenação ou complexação com espécies oxidantes (BIRT; HENDRICH; WANG, 2001).

Das e Pereira (1990), citados por Machado *et al.* (2008), demonstraram que um grupo carbonila em C-4, da estrutura básica do flavonoide, e uma dupla ligação entre C-2 e C-3 são importantes para a ação antioxidante, e a presença de hidroxilas no anel é determinante para a eliminação de radicais livres. Após a doação de grupos hidroxila ou grupos metila pelos flavonoides, os radicais livres perdem sua reatividade e são incapazes de atacar biomoléculas do organismo (HEIM; TAGLIAFERRO; BOBILYA, 2002). A alta atividade antioxidante destes compostos também ocorre devido a presença de hidrogênios dos grupos hidroxilas adjacentes (orto-difenóis) encontrados na estrutura, e às duplas ligações dos anéis benzênicos e dupla ligação da função oxo ($-C=O$) de algumas moléculas (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

A atividade antioxidante dos flavonoides, somada a outros mecanismos, podem contribuir para a saúde humana, mas esta possível relação ainda não está muito clara. (AMIC´ *et al.*, 2014). Estudos epidemiológicos revelam que dietas ricas em flavonoides estão correlacionadas com o aumento da longevidade e diminuição da incidência de doenças cardiovasculares, normalmente observadas em populações habituadas com a ingestão de altas quantidades de gorduras. Este fato foi observado na região do Mediterrâneo principalmente na França, onde as pessoas tendem a utilizar alimentos muito ricos em gorduras saturadas (queijos, fígado de ganso, presuntos) associado ao fumo e vida sedentária. Apesar destes hábitos, as pessoas desta região possuem baixa incidência de doenças cardíacas, e esta discrepância ficou conhecida como “Paradoxo Francês”, e já há algum tempo vem sendo relacionado ao uso do vinho tinto e à presença de flavonoides (SANTOS, 1992).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas da espécie *Bauhinia unguolata* L. foram coletadas em janeiro de 2007 na cidade de Campo Grande – MS coordenadas geográficas 20°30`37,5” S e 54°36`46,6” W, 545m (FIGURA 7). A identificação foi realizada no Herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS por Geciane Miriam Silva, onde uma exsicata foi depositada sob o número CGMS 19754. O presente estudo tem autorização do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente) para atividades de acesso ao patrimônio genético (Processo 02001.001165/2013-47).



FIGURA 7 - *Bauhinia unguolata* L. NO LOCAL DA COLETA
Foto: SILVA, C. B. (2012)

As folhas foram secas em temperatura ambiente e posteriormente reduzidas a fragmentos de pequenas dimensões em moinho de facas/martelo, promovendo desta forma uma maior eficácia do processo de extração por aumento da área de superfície de contato entre o sólido e o líquido extrator. Este material foi submetido ao processo de extração para a realização dos ensaios fitoquímicos e biológicos propostos. Para facilitar o entendimento das técnicas utilizadas a partir do material botânico, um fluxograma das fases da pesquisa encontra-se na FIGURA 8.

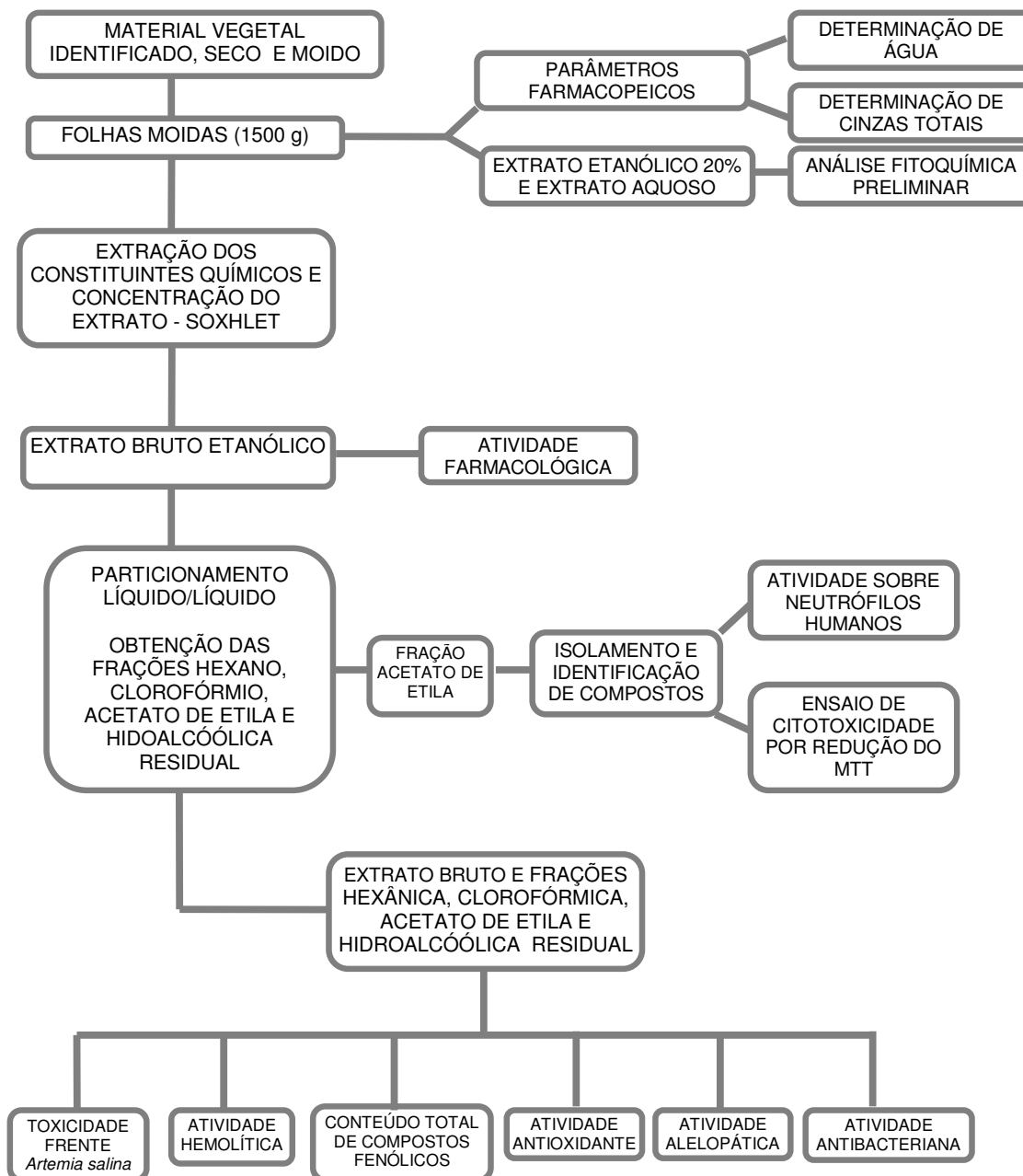


FIGURA 8 – FLUXOGRAMA DAS FASES DA PESQUISA COM *Bauhinia unguolata* L.
 Fonte: A Autora (2014)

3.2 PARÂMETROS FARMACOPEICOS

3.2.1 Determinação de água

Para determinação da água (teor de umidade) presente nas folhas da *Bauhinia unguolata* foi empregado o método gravimétrico (dessecação) descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010). Este método consiste em pesar de 2 a 5 g da planta seca e triturada, e transferir para cadinho tarado (previamente dessecado durante 30 minutos). O material vegetal permaneceu em estufa com temperatura de 100-105 °C durante cinco horas, sendo então resfriado em dessecador e pesado. O ciclo aquecimento-resfriamento foi repetido até a obtenção de peso constante (BRASIL, 2010). O ensaio foi realizado em triplicata. O resultado é apresentado em porcentagem de água em relação ao material vegetal seco.

3.2.2 Determinação de cinzas totais

Foi empregado o método descrito na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010), em que o material vegetal foi pesado em cadinho (calcinado, resfriado e pesado), incinerado até eliminação do carvão (não ultrapassando 600 °C) e resfriado em dessecador. Realizou-se a pesagem e cálculo da porcentagem de cinzas em relação ao material vegetal seco. O ensaio foi realizado em triplicata.

3.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

A identificação qualitativa dos grupos químicos presentes nas folhas da *Bauhinia unguolata* foi realizada de acordo com a metodologia desenvolvida por Moreira (1979) e adaptada por Miguel (2003).

3.3.1 Preparo do extrato hidroalcoólico a 20%

A obtenção do extrato hidroalcoólico a 20% foi realizada a partir da maceração de 40 g do material vegetal seco (folhas) e estabilizado de *Bauhinia unguolata*, em 200 mL de álcool etílico a 70% (v/v), levados em banho-maria à 70 °C por uma hora. O extrato foi filtrado em papel filtro e concentrado a um terço do volume inicial.

O fracionamento sequencial do extrato foi realizado com os solventes orgânicos: hexano, clorofórmio e acetato de etila. Agitou-se por 10 vezes com volumes de 20 mL de cada solvente em funil de separação. As porções resultantes tiveram seus volumes completos para 200 mL com os solventes constituintes. O resíduo do extrato residual teve seu volume completo para 200 mL com etanol.

3.3.1.1 Pesquisa de alcaloides

Para a realização deste ensaio foram utilizados 50 mL de cada fração, evaporadas à secura em banho-maria a 70 °C. O resíduo resultante foi dissolvido em 1 mL de etanol, fazendo-se na sequência a adição de 20 mL de ácido clorídrico a 1%. Cada uma das soluções obtidas foi particionada em 5 tubos de ensaio em porções de 1 mL, tendo como objetivo a pesquisa de alcalóides com os seguintes reativos: Reativo de Mayer (reação positiva: precipitado ou turvação branca), Reativo de Dragendorff (reação positiva: precipitado cor vermelho-tijolo), Reativo de Bouchardat (reação positiva: precipitado alaranjado) e Reativo de Bertrand (reação positiva: precipitado ou turvação branca).

3.3.1.2 Pesquisa de leucoantocianidinas

Para a realização deste método, transferiu-se para um béquer 10 mL de cada fração, e adicionadas 5 gotas de ácido clorídrico concentrado, levada para ebulição. A

positividade da reação para a presença de leucoantocianidinas é evidenciada pelo aparecimento de coloração vermelha.

3.3.1.3 Pesquisa de flavonoides

a) Heterosídeos flavônicos:

Transferiu-se 20 mL das frações hexano, clorofórmio e acetato de etila para cápsulas de porcelana, e levadas à secura em banho-maria. Realizou-se a dissolução do resíduo em 10 mL de etanol e transferiu-se 5 mL de cada fração para tubos de ensaio com a adição consecutiva de 200 mg de limalha de magnésio e 1 mL de ácido clorídrico fumegante pelas paredes do recipiente. A formação de coloração laranja indica a presença de flavonas, a violácea indica a presença de flavanonas e a vermelha indica a presença de flavonóis.

b) Teste do oxálico bórico ou reação de Taubock:

Em cápsulas de porcelana separadas, 10 mL de cada uma das frações foram levadas à secura em banho-maria. Ao resíduo adicionou-se 5 gotas de acetona e 30 mg de uma mistura na proporção 1:1 de ácido bórico e ácido oxálico. Após agitação, o volume foi levado à secura e, ao resíduo foi feita a adição de 5 mL de éter etílico. O conteúdo resultante foi transferido para tubos de ensaio e visualizado sob lâmpada ultravioleta. A observação de fluorescência indica reação positiva principalmente para flavonóis.

3.3.1.4 Pesquisa de cumarinas

Em cápsulas de porcelana foram adicionados 30 mL de cada fração e acidificação com ácido clorídrico 2 N até pH 1. Os volumes foram concentrados em banho-maria até 5 mL. As alíquotas resultantes foram então passadas para um funil de separação e extraídas duas vezes com 10 mL de éter etílico. Os volumes obtidos foram

concentrados novamente em banho-maria até 5 mL. Do extrato etéreo obtido, transferiu-se 3 mL para tubos de ensaio e a estes se adicionou 2 mL de hidróxido de sódio 1 N. Os recipientes foram levados à câmara de luz ultravioleta a 366 nm por um período de 15 minutos. A positividade da reação decorre da formação de fluorescência de coloração azul ou verde-amarelada. O restante do extrato etéreo obtido foi depositado em papel de filtro sob três pontos previamente marcados com grafite. As manchas 1 e 2 foram tratadas com hidróxido de sódio 1 N. A mancha 1 foi coberta com papel alumínio e, posteriormente, o papel filtro foi colocado na câmara de luz ultravioleta a 366 nm por 15 minutos. A reação positiva é caracterizada por fluorescência de coloração azul ou verde-amarelada na mancha 2 (tratada e não coberta).

3.3.1.5 Pesquisa de heterosídeos antraquinônicos

Adicionou-se 30 mL da fração hidroalcoólica e 5 ml de solução aquosa de ácido sulfúrico a 10 % em um balão de fundo chato com capacidade para 250 mL. O balão foi acoplado a um condensador, que permaneceu em refluxo por 30 minutos. O volume foi filtrado ainda quente em papel de filtro. Ao filtrado adicionou-se 30 mL de água destilada e, o conteúdo foi transferido para um funil de separação para realizar a extração com duas alíquotas de 10 mL de éter etílico. Os extratos etéreos resultantes foram concentrados em banho-maria até 5 mL e, posteriormente, transferidos para um tubo de ensaio onde se realizou a reação de Bornträger, com a adição de 5 mL de solução de hidróxido de amônio e agitando de forma lenta. O desenvolvimento de coloração vermelha na solução alcalina evidencia reação positiva para a presença de naftoquinonas e/ou antraquinonas.

3.3.1.6 Pesquisa de esteroides e/ou triterpenos

a) Reação de Liebermann-Bourchard: Trinta mililitros de cada uma das frações foram levadas à secura em banho-maria. Ao resíduo foram adicionados 5 mL de clorofórmio, fazendo-se a filtração em seguida. O extrato clorofórmico obtido foi pipetado para três tubos de ensaio nos volumes de 0,1 mL, 0,5 mL e 1,0 mL, com seus volumes completos para 2 mL com clorofórmio. Em seguida, realizou-se a reação de Liebermann-Burchard, fazendo-se a adição lenta de 1 mL de anidrido acético e 2 mL de ácido sulfúrico. A observação da formação de cor rósea escura ou azul indica a presença da função carbonila na posição 3 e dupla ligação entre os carbonos 5 e 6. Ainda, a formação de coloração verde indica a presença da função carbonila na posição 3 e ligação dupla nas posições 5 e 6. A ocorrência da formação de cor amarela, provavelmente, indica que a reação é devido à existência de uma metila no carbono 14.

b) Reação de Keller Kiliani: Transferiu-se 2 mL do extrato clorofórmico para um tubo de ensaio, que foi levado à secura em banho-maria. Ao resíduo foram adicionados 2 mL de ácido acético glacial e 0,2 mL de cloreto férrico a 1%. A mistura foi cuidadosamente transferida para um tubo de ensaio contendo 2 mL de ácido sulfúrico concentrado. A positividade da reação é observada pelo desenvolvimento de coloração na zona de contato dos sistemas líquidos e/ou coloração na fase acética. A coloração indica a presença de desoxi açúcares, sendo que tonalidade azul é sugestiva para esteroides e tonalidade verde para triterpenos.

3.3.2 Preparo do extrato aquoso

O processo extrativo para a obtenção do extrato aquoso a 20% (m/v) envolve a maceração de 40 g do material vegetal, seco e estabilizado, com 200 mL de água destilada em banho-maria a 60 °C, pelo período de duas horas e com agitação ocasional.

3.3.2.1 Teor de sólidos

Uma placa de petri (tarada) contendo 10 mL do extrato aquoso foi levada a estufa até secura. O resultado foi apresentado em peso de extrato seco em relação a amostra do vegetal, e foi realizado em triplicata.

3.3.2.2 Pesquisa de heterosídeos antociânicos

Caracteriza-se pela adição inicial de porções de 5 mL do extrato aquoso em três tubos de ensaio. Ao primeiro tubo foi adicionado ácido sulfúrico 1 N ou 10% até pH 1 para acidificação do meio; ao segundo, acrescentou-se hidróxido de sódio até pH 10, com a finalidade de alcalinizar o meio; por fim, no terceiro tubo foi feito o ajuste para neutralização do meio (pH=7). A detecção de diferentes colorações são indicadores da presença de heterosídeos antociânicos.

Concomitantemente, foi verificada a presença de leucoantocianidinas (amarelas) a partir da reação de formação de antocianidinas (vermelhas) da seguinte forma: transferência de 10 mL do extrato aquoso para um funil de separação. Na sequência, foi feita a extração com duas vezes de 10 mL de butanol saturado com água. Na etapa seguinte foi feita a reunião das frações de butanol em cápsula de porcelana e concentração das mesmas ao volume de 5 mL. Nesta alíquota, foi realizada a adição de 5 gotas de ácido clorídrico concentrado e, posterior, aquecimento até ebulição.

3.3.2.3 Pesquisa de heterosídeos saponínicos

Foram utilizados os três tubos de ensaio da análise de heterosídeos antociânicos, energicamente agitados por 5 minutos e então deixados em repouso por 30 minutos. Transcorrido o tempo, mediu-se a espuma formada, em centímetros. A

ocorrência de espuma com característica persistente, maior ou igual a um centímetro indica a presença de heterosídeos saponínicos.

3.3.2.4 Pesquisa de heterosídeos cianogênicos

Adicionou-se 15 mL de extrato aquoso em um tubo de ensaio com posterior inserção de 1 mL de ácido sulfúrico 1N sem a umectação das paredes do tubo. Suspendeu-se uma tira de papel picro-sódico na boca do tubo, com o auxílio de uma rolha de cortiça, a fim de que a tira não tocasse o extrato. O recipiente foi colocado em banho-maria a 60°C, por 30 minutos. A presença coloração vermelha na tira de papel indica a presença de heterosídeos cianogênicos.

3.3.2.5 Pesquisa de taninos

a) Reação com cloreto férrico a 1%: Em um tubo de ensaio foi adicionado 1 mL do extrato aquoso e, após, 5 gotas de solução aquosa de cloreto férrico a 1%. O desenvolvimento de coloração azul é indicativo de reação positiva para taninos hidrolisáveis, verde para taninos condensados e marrom para polifenóis.

c) Reação com formol-clorídrico: Em um balão de fundo chato de 250 mL de capacidade foram adicionados 30 mL do extrato aquoso, 6 mL de formaldeído e 4 mL de ácido clorídrico 37%. O recipiente foi acoplado a um condensador de bolas e o mesmo manteve-se em refluxo por uma hora. Após o sistema esfriar, o extrato formol-clorídrico foi filtrado e reservado para a pesquisa de taninos hidrolisáveis. O resíduo da filtração foi lavado com solução alcoólica a 50%. Em seguida foi efetuado o gotejamento com solução aquosa de hidróxido de potássio 5% sobre o resíduo da lavagem. A observação de coloração verde ao gotejar hidróxido de potássio indica reação positiva para taninos condensados. Separadamente, ao filtrado reservado foi realizada a adição de excesso de acetato de sódio, sem agitação, e gotas de cloreto

férrico a 1%. A reação positiva para taninos hidrolisáveis é indicada pelo desenvolvimento de coloração azul ao se adicionar cloreto férrico.

3.3.2.6 Pesquisa de amino grupos

Em cápsula de porcelana e com auxílio do banho-maria à temperatura de 60 °C, o volume de 10 mL de extrato aquoso foi concentrado até 5 mL. Em tira de papel de filtro, foram adicionadas 5 gotas do extrato aquoso concentrado em pontos previamente demarcados. Após secagem, o papel filtro foi nebulizado com solução de ninhidrina e levado à estufa à temperatura de 95-100 °C, por um período de 15 minutos. A reação é considerada positiva com o aparecimento de coloração azul violácea.

3.3.2.7 Pesquisa de ácidos fixos

Em um balão, foram adicionados 20mL do extrato aquoso e 2mL de NaOH 1N, que permaneceram em refluxo por 30 minutos. Após resfriamento, acidificou-se com H₂SO₄ 2N e extraiu-se com éter etílico (3 porções de 10mL). Os extratos etéreos foram reunidos e tratados com carvão ativo, sendo em seguida filtrados e evaporados em banho-maria (50°C) até a secura. O resíduo foi deixado em estufa por 10 minutos, resfriado e adicionados 5mL de NH₄OH (1N). Em uma tira de papel de filtro concentraram-se duas manchas (3 gotas em cada mancha) com o resíduo amoniacal, deixando na estufa até secar, e sobre uma das manchas foi gotejado o reativo de Nessler. A coloração marrom nessa mancha indica a presença de ácidos fixos.

3.3.2.8 Pesquisa de ácidos voláteis

Esse teste foi realizado da mesma maneira do que o teste para heterosídeos cianogénicos com uma fita de pH. A presença desses ácidos é indicada pela coloração da fita para valores abaixo de pH 7.

3.4 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

As folhas secas de *B. unguata* (1500 g) foram submetidas à extração em Soxhlet modificado utilizando 1500 mL de etanol como líquido extrator por um período de 15 horas, com esgotamento total. O extrato obtido foi filtrado e submetido à concentração em Soxhlet por destilação e posteriormente levado em banho-maria para remoção total do solvente.

3.5 FRACIONAMENTO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

3.5.1 Fracionamento

Para obter as frações a partir do extrato bruto etanólico (EB) foi utilizado um aparelho de Soxhlet modificado, e solventes em ordem crescente de polaridade (n-hexano, clorofórmio e acetato de etila), fracionados separadamente, por meio de partição líquido-líquido.

O aparelho de Soxhlet modificado foi conectado a um condensador de bolas e a um balão de fundo chato de capacidade para 150 mL. Todo o sistema foi levado ao aquecimento em chapa aquecedora em refluxo contínuo por 6 horas.

Para a extração com solventes mais densos que o extrato bruto foi necessário utilizar cartucho de vidro e funil adaptado até a base do cartucho em aparelho de Soxhlet convencional. Neste caso, o solvente contido no balão é aquecido e evaporado e, após condensação, goteja dentro do funil, passando por dentro do cartucho. Assim, o

extrato particionado de baixo para cima, promove o arraste de substâncias por afinidade. Duas aberturas na parte superior do cartucho permitem a saída do solvente (depois da extração), que irá preencher o espaço entre o cartucho e as paredes do Soxhlet até que o menisco alcance o ponto de refluxo do canal lateral do aparelho e o solvente com as substâncias extraídas sejam descarregadas sobre o conteúdo do balão. Dessa forma, todo o extrato é concentrado no balão, visto que o líquido extrator evapora puro para ser condensado e repetir a extração. Cada processo de fracionamento dura 6 horas.

Em casos de solventes mais densos, o aparelho de Soxhlet é modificado de modo a impedir o refluxo do solvente para o balão. A dilatação do canal lateral do Soxhlet foi retirada e o canal foi alargado na porção superior. Desta forma, quando o menisco atinge a curva do canal, não há refluxo, mas gotejamento constante. Nas duas situações, a partição se dá lentamente, com o máximo de contato possível.

Ao final do processo, todas as frações foram submetidas à destilação para remoção do solvente e levadas à secura em banho-maria (40-50 °C).

3.5.2 Isolamento dos compostos

Para isolamento dos constituintes da Fração acetato de etila (FAE) foi utilizada uma coluna aberta (3,0 x 50 cm) empacotada com a fase estacionária Sephadex[®] LH-20 (Amersham Pharmacia, G&E), e eluída com uma mistura (500 mL) de metanol e água (70:30) e 5 g de amostra solubilizada em 5 mL de metanol.

Para monitoramento do conteúdo coletado foi utilizada cromatografia em camada delgada (CCD) em placas Merck[®] 60 F254, com fase móvel constituída por acetato de etila, acetona e água (25:8:2) e como revelador o reativo NEU (difenilboriloxietilamina 1% em metanol seguido de polietilenoglicol-4000 5% em etanol).

Para verificação do perfil da amostra foi utilizado a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em aparelho Merck-Hitachi[®] composto de: bomba L2130 Elite LaChrom[®]; degaseificador de solventes L7812 Lachrom[®]; válvula de injeção Rheodyne[®] 7725i; detector DAD L2450 Elite LaChrom[®]; interface EZChrom Elite[®] conectada ao

sistema operacional Windows® NT. Utilizou-se coluna analítica Xterra® RP18 (Waters) 250 mm x 4,6 mm e partículas com 5 µm com *loop* de 20 µL, à temperatura de 25°C e detecção por varredura de espectro de 200 nm a 400 nm, para verificar o perfil da amostra obtida.

Para o isolamento dos compostos presentes na amostra também foi utilizada a CLAE em condições semi-preparativas no mesmo equipamento e condições anteriores utilizando coluna Xterra® Prep. RP18 (Waters) 78 mm x 300 mm e partículas com 10 µm, com *loop* de 100 µL e fluxo de 3 mL.min⁻¹.

3.5.3 Identificação dos compostos da FAE

Os espectros de RMN de ¹H e ¹³C foram realizados em espectrofotômetro Bruker® modelo DPX 200 MHz observando os núcleos de ¹H e ¹³C a 200,12 e 50,56 MHz e Bruker® de 400MHz observando os núcleos de ¹H e ¹³C a 400,13 e 100,61 MHz. Para o composto BAU5 foi utilizado o espectrofotômetro Brucker® AC 500 MHz para RMN de ¹H. Os deslocamentos químicos foram expressos em ppm em relação ao sinal do TMS (tetrametilsilano) em 0 ppm. O solvente utilizado nas espectroscopias de RMN de ¹³C e ¹H foi metanol deuterado.

Após a obtenção dos espectros de RMN a identificação de todas as substâncias foi realizada com base na comparação de dados espectroscópicos com dados disponíveis na literatura, com exceção do composto BAU5 que foi identificado pela análise do espectro de ressonância magnética nuclear ¹H e dos espectros de correlação heteronucleares e homonuclear HMBC, HSQC e COSY.

3.6 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

A água do mar artificial foi preparada com 38 g de sal marinho (23 g NaCl, 11 g MgCl₂·6H₂O, 4 g Na₂SO₄; 1,3 g CaCl₂·2H₂O ou CaCl₂·6H₂O; 0,7 g KCl) e 1.000 mL de água destilada. O pH foi ajustado para 9,0 com Na₂CO₃ para evitar o risco de morte das larvas durante a incubação, mantendo-o na faixa de 6-10,5 (LEWAN *et al.*, 1992). Os

ovos de *Artemia salina* (200 mg/400 mL) foram colocados na água do mar artificial para eclodir por 48 horas sob aeração contínua e expostos à luz diurna e temperatura controlada (27-30 °C). Paralelamente, preparou-se as amostras do EB, FH, FCL FAE e FR a serem analisadas, nas concentrações de 10, 100 e 1000 µg.mL⁻¹. As amostras foram diluídas em metanol e colocadas em frascos adequados para a realização do teste. O solvente foi evaporado em estufa a 40 °C, 24 horas antes do teste. Como controle positivo, foi utilizado sulfato de quinidina, nas mesmas concentrações das amostras e como controle negativo foi utilizado o metanol. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Após a eclosão dos ovos, 10 náuplios de *Artemia salina* foram transferidas para cada frasco contendo as amostras e controles. O volume de todos os tubos foi então ajustado com água do mar artificial para 2,5 mL. Após 24 horas, foi realizada a contagem das larvas mortas e vivas com auxílio de lupa e iluminação incandescente. Os dados foram analisados com o método estatístico Probitos e determinados os valores de CL₅₀ e 95% de intervalos de confiança. As frações foram consideradas tóxicas quando CL₅₀ foi menor que 1000 µg.mL⁻¹ (MEYER *et al.*, 1982).

3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA

3.7.1 Teste da atividade hemolítica com hemácias em suspensão

A atividade hemolítica das amostras foi avaliada seguindo metodologia descrita na Farmacopeia Brasileira 5ª edição (BRASIL, 2010) com adaptações. Foi utilizado no ensaio uma suspensão de sangue de carneiro (Newprov[®]) a 2% e solução de saponina (controle positivo). Partindo de uma concentração das amostras do EB, FH, FCL FAE e FR de 1000 µg.mL⁻¹, uma diluição em série foi preparada com tampão fosfato pH 7,4 e suspensão de sangue 2%, usando 4 tubos de ensaio, conforme a TABELA 3.

TABELA 3 – ESQUEMA DA DILUIÇÃO EM SÉRIE DA AMOSTRA

TUBO	1	2	3	4
Extrato vegetal (ml)	0,10	0,20	0,50	1,00
Tampão fosfato pH 7,4 (ml)	0,90	0,80	0,50	-
Suspensão de sangue (2%) (ml)	1,00	1,00	1,00	1,00

Fonte: BRASIL (2010).

Logo que os tubos foram preparados, os mesmos foram invertidos cuidadosamente evitando a formação de espuma. Após 30 minutos foram novamente agitados com cuidados e então deixados em repouso por 150 minutos. Posteriormente, foram centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm. Observou-se então se dentre eles existia algum na qual foi detectada a presença de hemólise total, ou seja, ocorreu solução límpida, vermelha e sem depósito de eritrócitos.

3.7.2 Teste de Atividade Hemolítica em Placas de Ágar Sangue

Em discos de papel filtro Whatman ($n^{\circ}1$), com aproximadamente 7mm de diâmetro, foram aplicados 20 μL da amostra a ser testada, na concentração de 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Após secagem, os discos foram colocados em placas de ágar sangue e incubadas por 24 horas a 35 °C em estufa. Após este período verificou-se a existência de halo de hemólise ao redor do disco de papel. Como controle positivo foi utilizada solução de saponina 1000 μg , e como controle negativo de discos impregnados com os solventes utilizados foram submetidos ao teste para descartar a influência destes (KALEGARI, 2011).

3.8 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS

O conteúdo de fenólicos foi determinado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu descrito por Singleton e Rossi (1965) com modificações. O ácido gálico foi utilizado como controle e a partir dele construído uma curva analítica contendo 2,5;

5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5 e 20 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. As amostras contendo EB e frações foram solubilizadas em metanol na concentração de 1 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Aliquotas das amostras foram transferidas para tubos de ensaio com rosca, sendo posteriormente adicionados outros componentes conforme a TABELA 4.

TABELA 4 - MEIO REACIONAL DO ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DE POLIFENÓIS TOTAIS

	AMOSTRAS / VOLUME (mL)	ÁGUA (mL)	FOLIN-CIOCALTEU (mL)	METANOL (mL)
EB	0,16	3,6	0,2	0,16
FH	0,32	3,6	0,2	--
FCL	0,08	3,6	0,2	0,24
FAE	0,08	3,6	0,2	0,24
FR	0,16	3,6	0,2	0,16

EB= Extrato bruto, FH= fração hexano, FCL= fração clorofórmio, FAE= fração acetato de etila, FR= fração hidroalcoólica residual.

Após o preparo das soluções e agitação, os tubos foram mantidos em repouso por 10 minutos e posteriormente foi adicionado em cada um 0,4 mL de solução de carbonato de cálcio 10%. Os tubos foram deixados em repouso por 30 minutos ao abrigo da luz e, na sequência, leitura da absorbância a 760 nm em espectrofotômetro Shimadzu®, modelo UV-1600.

O conteúdo de fenóis totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras frente à curva de calibração construída com o padrão ácido gálico e os resultados expressos em mg equivalente de ácido gálico por grama de amostra (mg EAG/g) (KROYER; HEGEDUS, 2001; SINGLETON, ROSSI JR., 1965). Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

O teste de Folin-Ciocalteu é um dos mais antigos métodos utilizados para determinar o conteúdo de fenólicos totais (SINGLETON; ROSSI JR., 1965). O reagente de Folin Ciocalteu contém ânions heteopoli-fosfotungstato-molibdatos que reagem com compostos fenólicos em meio básico, fornecido pelo acréscimo de carbonato de sódio (NaCO_3) à reação, ocorrendo formação de um ânion fenolato pela retirada de um hidrogênio ácido, que reduz o reagente de molibdato em óxido de molibdênio, forma-se um complexo molibdênio-tungstênio de coloração azul intensa, através de um provável

mecanismo de transferência de elétrons (PRIOR; WU; SCHAICH, 2005; ROGINSKY; LISSI, 2005).

3.9 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

3.9.1 Redução do Complexo Fosfomolibdênio

O complexo fosfomolibdênio é formado pela reação da solução de fosfato de sódio 0,1 M (28 mL), molibdato de amônio 0,03 M (12 mL), ácido sulfúrico 3M (20 mL) e água destilada (q.s.p 100 mL), preparado no momento do uso (PRIETO, PINEDA, AGUILAR, 1999).

Soluções padrões de ácido ascórbico (vitamina C) e rutina, bem como o EB, FH, FCL, FAE e FR, foram preparadas na concentração de 200 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ em metanol (BIANCO, 2003). Destas, 0,3 mL foram adicionados a 3 mL de solução reagente do complexo fosfomolibdênio. Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria à 95°C por 90 min. Após resfriamento, foi realizada a leitura a 695 nm, em um espectrofotômetro UV-1600 Shimadzu® para obtenção das absorbâncias. A capacidade antioxidante das amostras foi expressa em relação à rutina e vitamina C, padrões considerados com 100% de atividade antioxidante.

3.9.2 Redução do Radical DPPH

O potencial de redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) das amostras foram analisados por espectrofotometria. Foram preparados cinco soluções metanólicas das frações nas concentrações de 2,0 à 12,5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, das quais 2,5 mL foram adicionados a 1 mL de uma solução metanólica de DPPH• na concentração de 0,03 mmol.mL^{-1} . Para as frações hexano foram utilizadas cinco soluções com concentrações entre 100 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Para cada amostra foi preparado um branco com 2,5 mL da solução e 1 mL de metanol para cada concentração. Paralelamente foi

feito um controle com 2,5 mL de metanol e 1 mL de DPPH[•]. Após trinta minutos de reação as leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 518 nm, correspondente a absorção máxima do radical em estudo. Como padrões foram utilizados rutina e ácido ascórbico (MENSOR *et al.*2001). Os resultados foram calculados da seguinte forma:

$$\text{AAR\% Ácido Ascórbico} = \left(\frac{\text{Abs Amostra} - \text{Abs branco}}{\text{Abs Ác. Ascorbico} - \text{Abs Branco}} \right) \times 100$$

$$\text{AAR\% Rutina} = \left(\frac{\text{Abs Amostra} - \text{Abs branco}}{\text{Abs Rutina} - \text{Abs Branco}} \right) \times 100$$

Para cada amostra testada foi calculada a porcentagem de inibição do DPPH[•] e por regressão linear foi possível calcular a CI₅₀, ou seja, a concentração da amostra que reduz 50% da concentração inicial de DPPH[•]. Os valores de CI₅₀ foram comparados segundo o método estatístico de Tukey ($p < 0,05$).

3.9.3 Método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS

As amostras obtidas a partir das folhas e caule da *Bauhinia unguolata* foram submetidas ao ensaio da atividade antioxidante pelo método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) de acordo com Morais *et al.*(2006) com modificações. Pesou-se 3 mg das amostras (extrato e frações) e padrão BHT e diluiu-se em 1 mL de etanol. Um volume de 0,5 mL de solução de gema do ovo homogeneizada (5% m/v) e 0,1 mL de cada amostra e controle foram adicionados a tubos de ensaio. Cada tubo de ensaio, em seguida, recebeu 0,05 mL de solução de 2,2'-azobis (2 amidinopropano) dicloridrato - ABAP (0,035%) para induzir a peroxidação lipídica. Adicionou-se 1,5 mL de ácido acético 20% (pH 3,5), 1,5 mL de ácido tiobarbitúrico - TBA (0,4% m/v) em solução de sulfato de dodecil de sódio - SDS (0,55% m/v) e 400 µL

de água destilada. O material assim preparado foi submetido ao banho maria (95 °C) durante 1 hora sob agitação. Após resfriamento, cada tubo recebeu 1,5 mL de n-butanol e foi centrifugado durante 3 minutos a 3.000 rpm, com posterior leitura espectrofotométrica dos sobrenadantes a 532 nm. Todo o procedimento foi realizado em triplicata.

Obteve-se o Índice Antioxidante da amostra em percentual (IA%) usando a fórmula: $IA\% = (1 - A/C) \times 100$, onde C é a absorbância do controle totalmente oxidado e A, a média aritmética das absorbâncias da amostra testada.

O teste do malondialdeído (MDA), que é um produto secundário formado durante a oxidação de ácidos graxos poli-insaturados (AGPI) por cisão *beta* dos AGPI peroxidados, principalmente o ácido araquidônico, é utilizado para avaliar a oxidação de lipídeos. Em condições apropriadas de incubação (meio ácido e aquecimento) o MDA reage com o ácido tiobarbitúrico (TBA) formando um cromóforo rosado que pode ser medido espectrometricamente. O ponto final da peroxidação lipídica é, portanto, a mensuração da substância malondialdeído (MDA), permitindo avaliar a proteção da lipoperoxidação pelas substâncias antioxidantes presentes no material analisado (DAWN-LINSLEY *et al.*, 2005).

3.10 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ALELOPÁTICA

Foi analisado possível atividade alelopática do EB, FH, FCI, FAE e FR obtidos das folhas de *Bauhinia unguolata*, sobre sementes de *Lactuca sativa* L. cv. Grand rapids (alface, da empresa Top Seed[®], lote 009283, com 89% de germinação conforme informado pelo fabricante) e sementes de *Allium cepa* L. cv. Baia periforme (cebola, da empresa Feltrin[®] sementes, ordem 309895, com 93% de germinação conforme informado pelo fabricante).

As placas de Petri (9,0 cm de diâmetro) contendo papel filtro nº 1 (Whatman[®]), previamente autoclavadas, receberam 5,0 mL da solução das amostras (EB e frações), preparadas nas concentrações de 250 µg.mL⁻¹, 500 µg.mL⁻¹ e 1000 µg.mL⁻¹ em quadruplicata. Em seguida, foram semeadas aleatoriamente sobre cada disco de papel

filtro, 50 sementes da espécie alvo (alface ou cebola), conforme Brasil (2009). Como controle, procedimento similar foi realizado, substituindo extratos e frações por água.

As placas de Petri contendo as sementes foram levadas a uma câmara de germinação (BOD), com condições de luz (160 W), umidade relativa ($\pm 80\%$) e temperatura constantes, adequadas a cada espécie alvo, conforme Brasil (2009) (alface, 25 °C com luz interna constante; e cebola 20 °C, com foto período de 12h).

3.10.1 Teste de Germinação

Para os bioensaios de germinação, foi utilizada metodologia proposta por Macias *et al.* (2000). Contagem diária do número de sementes germinadas foram realizadas, sendo que para alface ocorreu contagem a cada 12 horas, e para cebola 1 vez ao dia, tendo como critério a protrusão radicular com no mínimo 2,0 mm de comprimento. O experimento foi considerado concluído quando a germinação foi nula por três dias consecutivos. A germinação foi avaliada por meio do IVG (Índice de velocidade de germinação) (MAGUIRE, 1962) e porcentagem de germinação (LABOURIAU, 1983). O IVG foi calculado segundo Maguire (1962) para cada repetição de cada tratamento utilizando a quantidade de sementes germinadas, dividindo-a pelo dia da germinação e somando-se até o último dia de germinação. As médias dos IVGs foram submetidas à análise estatística.

3.10.2 Teste de Crescimento

Para os bioensaios de crescimento utilizou-se a metodologia descrita por Barnes *et al.*, (1987) e Macias *et al.*, (2000). Após três dias da protrusão radicular, mediu-se o alongamento da raiz e do hipocótilo/coleótilo (dez plântulas por placa) utilizando papel milimetrado. Posteriormente essas plântulas foram levadas para secar em uma estufa a 60 °C até peso constante para a obtenção da massa seca. O nível de atividade foi expresso em porcentagem de inibição/ estímulo de acordo com a fórmula:

$$\% \text{ atividade} = \left[\frac{\text{MT} - \text{MC}}{\text{MC}} \right] \times 100\%$$

em que MT é a media de alongamento dos tratamentos e MC a media de alongamento do controle.

3.10.3 Respiração radicular

Para este ensaio utilizou-se técnica, que estima a respiração das células radiculares, por meio da redução do cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) por enzimas desidrogenases (envolvidas no processo de respiração) com surgimento dos cristais de formazan de coloração avermelhada (STEPONKUS; LANPHEAR, 1967; CARMO *et al.*, 2007).

Foram cortadas 10 raízes, das sementes que germinaram, a 1,0 cm a partir da coifa e transferidas para tubos de ensaio com adição de 5 mL de cloridrato de trifetil tetrazólio (TTC) 0,6% (p/v), 1 mL de tampão fosfato de sódio (mono e dibásico) a 0,05M (pH 7,0) em cada tubo, e mantidos em temperatura ambiente por 2 horas. Após esse período os tubos foram transferidos para estufa a 40 °C por 15 horas.

Ao final desse tempo, as soluções dos tubos foram drenadas e as raízes lavadas duas vezes com água destilada, com posterior drenagem máxima. Adicionou-se então 7 mL de etanol 95% (v/v), e então os tubos foram levados para o banho-maria com água fervente (± 100 °C) durante 15 minutos, ou até secura. Após esse período os tubos foram resfriados até temperatura ambiente e sendo então acrescentado 10 mL de etanol 95% (v/v). Em seguida foi realizada a leitura em espectrofotômetro usando como branco etanol 95% (v/v), sendo o resultado apresentado em absorbância a 530 nm.

3.10.4 Conteúdo de clorofila total

Foram cortadas 10 folhas primárias inteiras, das plântulas, de cada placa e transferidas para tubos de ensaio, contendo 5,0 mL de DMSO (dimetilsulfóxido) e então os tubos foram embrulhados em papel alumínio e deixados em temperatura ambiente por 24 horas. Após este período foi realizada a leitura da absorvância da clorofila A (645 nm) e B (663 nm) em espectrofotômetro utilizando como branco DMSO. O teor de médio clorofila total (mg.L^{-1}) foi calculado de acordo com a equação de Arnon (1949) e Lichtenthaler (1987).

$$\text{Clorofila total} = 20,2 \times \text{Abs A} + 8,02 \times \text{Abs B}$$

Onde: AbsA = absorvância da clorofila a;

AbsB = absorvância da clorofila b

3.10.5 Análise Estatística

Para cada amostra avaliada, o delineamento experimental adotado foi o inteiramente casualizado com quatro tratamentos (controle água destilada, 250, 500 e 1000 mg L^{-1}) em quatro repetições. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo Teste de Tukey, a 5% de probabilidade com auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2000). Os resultados foram expressos em relação ao controle negativo (branco) e mostrados em gráfico de barras. O valor "0" representa o controle. Qualquer valor positivo implica em estimulação dos parâmetros avaliados e os valores negativos inibição. As medias foram então submetidas a análise de variância (ANOVA) e comparadas entre si pelo teste de comparação de média Tukey 5% através do programa SISVAR.

3.11 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

Para avaliação da atividade antibacteriana foi utilizada a técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os microrganismos utilizados na pesquisa foram: *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923, *Escherichia coli* ATCC[®] 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC[®] 27853 e *Enterococcus faecalis* ATCC[®] 29212. ATCC[®] (American Type Culture Collection) são cepas de referências de origem e padrão definido de provas para a sua caracterização. As linhagens de referência permaneceram armazenadas a - 80°C em TSB com glicerol a 15%, até o momento do uso. Para reativação, as cepas conservadas em condições de congelamento foram subcultivadas em ágar TSA (Difco), a temperatura de 37 °C por 20-24 horas. O preparo dos inóculos para as linhagens referência foram realizadas suspensões em tubo contendo salina estéril (NaCl a 0,85%) na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹, equivalente ao tubo 0,5 de McFarland.

3.11.1 Concentração inibitória mínima (CIM)

O ensaio foi realizado em microplacas estéreis de 96 cavidades com fundo em forma de “U”, contendo 12 colunas e 8 linhas, identificadas de A a H. O extratos preparados na concentração de 100 mg.mL⁻¹ e as frações 20 mg.mL⁻¹, diluídos em etanol a 10% e DMSO a 2%, foram filtrados utilizando membrana milipore 0,22 µm. Após a filtração foi preparada uma solução na concentração de 10.000 µg.mL⁻¹ e 400 µg.mL⁻¹ de cada extrato e fração a ser testado. Em seguida foram transferidos 100 µL de caldo Mueller-Hinton (Merck[®]) na linha A das colunas 2 a 9. Na coluna 2 foi inoculado 100 µL de extrato ou fração e transferido após homogeneização 100 µL para o orifício da coluna 3, repetindo-se o procedimento até a coluna 9, e desprezando-se após homogeneização o excesso da diluição, obtendo-se assim concentrações decrescentes dos extratos (5.000 µg.mL⁻¹ – coluna 2; 2.500 µg.mL⁻¹ - coluna 3; 1.250 µg.mL⁻¹ - coluna 4; 625 µg. mL⁻¹ - coluna 5; 312 µg.mL⁻¹ - coluna 6; 156 µg.mL⁻¹ - coluna 7; 78 µg.mL⁻¹ - coluna 8; 39 µg.mL⁻¹ - coluna 9) e frações (200 µg.mL⁻¹ – coluna 2; 100

$\mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 3; $50 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 4; $25 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 5; $12 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 6; $6 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 7; $3 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 8; $1 \mu\text{g.mL}^{-1}$ - coluna 9).

Os inóculos bacterianos preparados na concentração de $1,0 \times 10^8$ UFC.mL⁻¹, equivalente ao tubo 0,5 de McFarland foram inoculados em um volume de 5 μL nos orifícios das colunas de 2 a 9, permanecendo uma concentração final de 10^4 por poço.

Os orifícios das colunas 1, 10, 11 e 12 foram destinados para os testes de controle do experimento. A coluna 1 foi reservada para o controle negativo ou de esterilidade, utilizando 100 μL de caldo Mueller-Hinton e 100 μL de extrato ou fração na concentração de $10000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e $400 \mu\text{g.mL}^{-1}$ respectivamente. O orifício da coluna 10 e 11 para o controle negativo da atividade inibitória do diluente etanol e DMSO, utilizado na preparação dos extratos. Na coluna 10, 100 μL de solução de etanol a 10% foram adicionados com 100 μL de caldo Mueller-Hinton e 5 μL do inóculo bacteriano e na coluna 11, 100 μL de solução de DMSO a 2% foram adicionados com 100 μL de caldo Mueller-Hinton e 5 μL do inóculo bacteriano. O orifício da coluna 12 para controle positivo ou de viabilidade, receberam 100 μL de caldo Mueller-Hinton e 5 μL do inóculo bacteriano.

As microplacas foram incubadas em estufa bacteriológica a 35 °C por 16 a 20 horas. Decorrido este intervalo de tempo foram acrescidos 20 μL de solução aquosa de TTC (cloreto de trifetil tetrazolium) a 0,5% e as microplacas reincubadas por três horas a 35 °C. Após esta incubação foi realizada a leitura dos resultados. A presença de coloração vermelha nos orifícios foi interpretada como prova negativa de efeito inibitório do extrato ou fração vegetal, enquanto que a ausência da coloração vermelha foi considerada prova positiva da ação inibitória do extrato ou fração vegetal. Cada teste foi realizado em duplicata.

3.12 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

3.12.1 Animais

Para a realização dos experimentos foram utilizados ratos *Wistar* machos (180 a 230 g) e camundongos Swiss machos (25 a 35 g), provenientes do Biotério do Setor

de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Os ratos foram mantidos em sala de aclimação do Laboratório de Dor do Departamento de Farmacologia da UFPR e os camundongos no próprio biotério, em temperatura constante (23 ± 2 °C), com umidade relativa do ar entre 30% e 70%, ciclo claro-escuro de 12 horas e tratados com água e ração *ad libitum*. Os animais foram retirados da sala de aclimação e mantidos no laboratório de experimentação para adaptação por um período de pelo menos 1 h antes do início dos experimentos e foram utilizados somente uma vez em cada teste, os quais foram realizados entre as 8 e 17 horas.

Ratos foram utilizados nos experimentos de avaliação da nocicepção induzida por formalina, teste da placa quente, avaliação da atividade anti-inflamatória e campo aberto. Os camundongos foram utilizados no ensaio das contorções abdominais induzidas pelo ácido acético.

Os procedimentos experimentais foram conduzidos de acordo com as orientações para os cuidados com animais de laboratório com os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética do Uso de Animais (CEUA) da UFPR sob nº 711 (ANEXO 1). O número de animais e a intensidade do estímulo nocivo foram os mínimos necessários para demonstrar os efeitos do extrato, seguindo o princípio dos 3 Rs (*replace, reduction, refinement*) de Russel e Burch (1992).

3.12.2 Grupos experimentais

Para avaliação da atividade antinociceptiva, edema de pata induzido por carragenina e campo aberto os animais foram divididos em quatro grupos (n=8). Os animais foram tratados com o extrato bruto etanólico obtido das folhas da *Bauhinia unguolata* nas doses de 3 (Grupo 1), 9 (Grupo 2) e 27 mg/Kg (Grupo 3) e veículo (Grupo 4 / controle negativo). Para a avaliação da atividade da mieloperoxidase e análise histológica os animais foram divididos em 6 grupos (n=5), tratados com as doses do extrato de 3 (Grupo 1), 9 (Grupo 2) e 27 mg/Kg (Grupo 3), veículo (Grupo 4), nenhum tratamento / controle negativo/NAIVE (Grupo 5) e dexametasona 30mg/Kg (Grupo 6).

Para preparo das soluções do extrato e controles foi utilizado salina (NaCl 0,9 %) e Tween 80 (1gota/mL) e os animais tratados com volume equivalente 1mL/Kg. O extrato nas doses utilizadas, veículo e controle positivo foram administrados por injeção intraperitoneal (i.p.) na região central do quadrante inferior direito do animal trinta minutos antes de cada experimento.

3.12.3 Avaliação da atividade antinociceptiva

3.12.3.1 Nocicepção induzida por formalina

Ratos dos grupos Grupos 1, 2, 3 e 4 foram tratados com o extrato e com o veículo, e colocados individualmente sob funil de vidro invertido com espelho ao fundo por 30 minutos para ambientação. Em seguida receberam 50 µl de formalina 2,5% no dorso da pata posterior direita. O número de elevação das patas (*flinches*) foram contados em um período de 60 minutos e agrupados em duas fases, sendo a 1ª fase correspondendo ao número de elevações que ocorreram no intervalo de 0 - 5 minutos e a 2ª fase no intervalo de 15 - 60 minutos. É um modelo bifásico, pois avalia duas fases de sensibilidade dolorosa, sendo a analgesia observada na primeira fase relacionada a dor de origem neurogênica e na segunda relacionada a dor de origem inflamatória (HUNSKAAR *et al.*, 1985).

3.12.3.2 Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

O teste de contorções abdominais em camundongos foi realizado de acordo com Koster *et al.* (1959). As doses de extrato utilizadas para os camundongos foram calculadas por extrapolação alométrica a partir das doses utilizadas para os ratos dos Grupos 1, 2 e 3 de acordo com Pachaly e Brito (2001). No método de extrapolação linear, usa-se uma dose que já foi estabelecida em uma espécie para aplicação em

outras espécies diferentes (FREITAS; CARREGARO, 2013). As doses do extrato utilizadas foram 4,8 (Grupo 1); 13,8 (Grupo 2) e 43,3 mg/Kg (Grupo 3). Após 30 minutos da administração do extrato e veículo, o ácido acético 0,6% na dose de 10 mL/kg foi administrado por via intraperitoneal na região central do quadrante inferior esquerdo do animal. O número de contorções abdominais foi anotado a cada 5 minutos, até 30 minutos após a administração do ácido acético.

3.12.3.3 Teste da placa quente

Ratos dos grupos Grupos 1, 2, 3 e 4 foram colocados individualmente em uma placa quente com temperatura constante de $52,5 \pm 1$ °C. O tempo (s) que cada animal levou para retirar uma pata traseira da placa de alumínio (tempo de latência) foi cronometrado (LAPA *et al.*, 2008). Após a obtenção de dois valores basais (com intervalos de 30 minutos), os grupos receberam as doses do extrato e veículo. Foram realizadas medidas repetidas 30 minutos após o tratamento, sendo 30 segundos (tempo de corte) o tempo máximo que o animal foi mantido na placa para se evitar danos às patas.

3.12.4 Avaliação da atividade anti-inflamatória

3.12.4.1 Edema de Pata Induzido por Carragenina

Para avaliação do edema de pata induzido por carragenina foi realizada uma medida basal da espessura das patas (direita e esquerda) dos ratos dos grupos Grupos 1, 2, 3 e 4 antes do início do experimento, com o auxílio de um paquímetro. Trinta minutos após o tratamento com o extrato e veículo, foi induzido o edema de pata pela injeção de 0,1 mL de carragenina (1% p/v) em salina estéril, administradas na região subplantar da pata direita de ratos. Na pata esquerda, usada como controle, foi injetado

0,1 mL de salina estéril (FRACASSO *et al.*, 1996). Registros subsequentes dos volumes das patas direita e esquerda foram realizados uma, duas, três e quatro horas após as injeções de carragenina e salina, e foram comparados com as leituras iniciais.

3.12.4.2 Medida da atividade enzimática da mieloperoxidase (MPO) e Análise histológica

A atividade da enzima mieloperoxidase (MPO), utilizada como indicativo da presença de leucócitos polimorfonucleares, foi avaliada utilizando-se a metodologia de Bradley *et al.* (1982) modificada por De Young *et al.* (1989). Para realização deste experimento, os animais foram tratados com as doses do extrato de 3 (Grupo 1), 9 (Grupo 2) e 27 mg/Kg (Grupo 3), veículo (Grupo 4) e dexametasona 30mg/Kg (Grupo 6). Meia hora após o tratamento foi induzido o edema de pata como descrito no método anterior (3.12.4.1). Animais do Grupo 5 não receberam nenhum tratamento e nem indução do edema. Amostras de tecido (círculos de 6 mm) das patas dos ratos foram retiradas 24 horas após a indução do edema, pesadas e adicionadas a 1,5 mL de tampão fosfato de sódio 80 mM (pH 5,4), contendo 0,5% de hexadeciltrimetilamônio (HTBA) e homogeneizadas. As amostras (1,5 mL) foram colocadas em microtubos e centrifugadas a 12.000 rpm a 4 °C por 20 min. Triplicatas de 30 µL do sobrenadante foram colocadas em placas de 96 poços, onde posteriormente foram adicionados 200 µL de uma mistura contendo 100 µL de tampão fosfato de sódio 80 mM (pH 5,4), 85 µL de PBS 0,22 M (pH 5,4) e 15 µL de peróxido de hidrogênio 0,017% em cada poço. A reação foi iniciada pela adição de 20 µL de tetrametilbenzidina HCL (TMB) 18,4 Mm, dissolvida em uma solução aquosa de dimetilformamida a 8%. Posteriormente, a placa foi incubada a 37 °C por 3 minutos, passado este período foi adicionando 30 µL de acetato de sódio 1,46 M (pH 3,0) em cada poço para interromper a reação. A atividade enzimática foi determinada colorimetricamente usando leitor de placas (Bio-Tek Ultra Microplate reader EL 808) com leitura da absorbância em 620 nm, sendo expressa em mDO/biópsia.

Para a análise histológica as amostras das patas dos ratos submetidos ao modelo de edema de pata induzida pela carragenina, foram fixadas em solução ALFAC (álcool 80%, formol 40% e ácido acético glacial) por um período de 16 horas, sendo em seguida conservadas em álcool 70%. As patas foram posteriormente desidratadas, emblocadas em parafina, seccionadas em cortes de 5 μm em um micrótomo e coradas com hematoxilina e eosina. A infiltração de leucócitos, edema e espessura da epiderme foram avaliadas em áreas representativas com aumento de 400x. A quantificação das células presentes foi realizada através da contagem por campo com aumento de 400x, sendo analisados 7 campos de 4 cortes histológicos distintos.

3.12.5 Efeito do extrato sobre a atividade locomotora

O desempenho motor dos animais foi avaliado no aparato de campo aberto (*open field*), que consiste de uma arena de madeira retangular (50 cm de comprimento, 40 cm de largura e 50 cm de altura), pintada de branco com o assoalho dividido em 9 seções. No presente trabalho avaliou-se uma possível atividade do extrato sobre o sistema motor. Os animais foram tratados com o extrato ou veículo meia hora antes do teste. Após este período foram colocados individualmente no centro da arena e observados (filmados) por um período de 5 minutos. Anotou-se o número de vezes com que cada animal invadiu com as quatro patas uma das divisões (quadrado) do chão da arena (ambulação, passando pelas paredes) denominada frequência de locomoção ou número de cruzamentos. Este teste é baseado na metodologia descrita por Sielgel (1946) e validado por Archer (1973) e um resultado negativo demonstra que a substância analisada não é capaz de alterar a coordenação motora (OLIVEIRA *et al.*, 2008).

3.12.6 Análise estatística

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão das médias. As diferenças entre as médias foram determinadas através da análise de variância de uma via (ANOVA), seguida do teste Newman Keuls. As análises foram realizadas usando

GraphPad Prism versão 5.0 (*GraphPad Software*, San Diego, EUA). Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

3.13 ATIVIDADE IMUNOMODULADORA SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS

Este ensaio foi realizado após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da UFPR do projeto intitulado “Estudo de produtos naturais sobre a função dos neutrófilos humano sob registro CEP/SD 1033.158.10.11/ CAAE 0090.0.091.000-10 (ANEXO 2). Para avaliar a atividade sobre neutrófilos foram utilizado os compostos isolados da FAE (astilbina, quercetina, engeletina, afzelina e canferol). Para este ensaio utilizou-se técnica adaptada e modificada de Park, Fikrig e Smithwick (1968), Park e Good (1970), Levinsky *et al.* (1983), Markert, Andrews e Babior (1984) e Abreu *et al.* (2009).

A partir de 1 mg de amostras dos compostos isolados foram preparadas soluções 2,5; 5,0; 10,0 e 15,0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Lâminas contendo 50 μL destas soluções, de controle positivo PMA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*) e controles negativos contendo neutrófilos humanos com e sem tratamento com o NBT (azul *p*-Nitrotetrazólio) foram preparadas 48 horas antes da realização do experimento e secas em temperatura ambiente.

O ensaio iniciou-se com a adição de 3 mL de sangue humano (coletado no dia do ensaio com EDTA) em 36 mL de água destilada com homogeneização por 30 segundos. Em seguida, foram adicionados 12 mL de tampão PBS (salina tamponada com fosfatos, pH 7,2) concentrado 4 vezes com nova homogeneização (15 segundos) e posterior centrifugação (10 min/2000 rpm). O sobrenadante foi desprezado e o sedimento ressuspense em 3 mL de PBS normal. Em um tubo cônico, contendo 3 mL de uma mistura de polissacarídeos neutros hidrofílicos de alta densidade (Ficoll-Hypaque®), o sedimento ressuspense foi adicionado e centrifugado (25 min/1500 rpm). O sobrenadante foi retirado e o sedimento ressuspense novamente em 3 mL de PBS normal. Nova centrifugação (10 min/2000 rpm) foi realizada e o sobrenadante desprezado e o sedimento ressuspense em PBS. A suspensão de células em PBS foi adicionada nas lâminas previamente preparadas, e incubada (20 min/37 °C) em câmara úmida. Após incubação, as placas foram lavadas com PBS normal e adicionado NBT

(exceção da lâmina controle negativo), e incubadas (15 min/37 °C) em câmara úmida. As lâminas foram lavadas novamente com PBS normal e secas à temperatura ambiente e posteriormente coradas com safranina. Após o preparo, as lâminas foram examinadas ao microscópio, e a presença de grânulos azuis no interior de todos os neutrófilos foi considerada como ativação. A amostra foi considerada ativadora de neutrófilos somente após apresentar resultado positivo em cinco ensaios distintos.

3.14 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE POR REDUÇÃO DO MTT

Neste ensaio foi verificada a atividade citotóxica dos compostos isolados da FAE (astilbina, quercetina, engeletina e canferol) por meio de experimentos *in vitro*, utilizando a linhagem celular SiHa (ATCC® HTB35™/Neoplasia de cérvix uterina escamosa humana com genoma de HPV16). Foi medida a viabilidade e proliferação celular através da redução do sal MTT tetrazólio {brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]} (amarelo), por células metabolicamente ativas, no interior da mitocôndria a um produto chamado formazam (púrpura) quantificado por espectrofotometria (MOSMANN, 1983).

Para o cultivo celular foi utilizado o meio de cultura DMEM (*Dulbecco's Modified Eagle Medium*) suplementado com soro fetal bovino 10%, penicilina 100 U.mL⁻¹, estreptomicina 100 µg.mL⁻¹ e anfotericina B 0,25 µg.mL⁻¹. O cultivo ocorreu em frascos de cultura de células, em ambiente estéril, a 37°C, sob atmosfera com 5% de CO₂. As células foram mantidas nas condições de cultivo até a concentração de 1x10⁵ células.mL⁻¹, colhidas com solução de tripsina 0,5% em solução salina de Hanks, para o plaqueamento, 24 horas antes dos ensaios.

A suspensão foi distribuída em uma placa de 96 poços plaqueada em 100 µL por poço. Foram mantidos poços sem células, apenas com o meio de cultura (branco) e poços controle negativo (sem tratamento), positivo e veículo (DMSO 0,5%). O plaqueamento foi realizado em triplicata para cada concentração dos compostos isolados utilizados e controles, mantido por 24 hrs para aderir no poço.

Após esta etapa inicial, o meio de cultura foi retirado (com pipeta) e os compostos isolados, nas concentrações de 3,125; 12,5; 25 e 50 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, diluídos em meio de cultura sem soro, foram adicionados aos poços (100 μL por poço) e posteriormente incubados a 37 °C em incubadora a 5% de CO_2 , por um período de 24 hrs.

Após o período de incubação, o meio de cultura foi removido (lavado com PBS 200 μL /poço) e adicionou-se aos poços 100 μL do corante MTT (5 mg.mL^{-1}) e as células foram novamente incubadas ao abrigo da luz a 37 °C (em incubadora a 5% de CO_2) por 3 hrs. Em seguida, removeu-se a solução de MTT dos poços e solubilizou-se os cristais roxos de formazam formados com adição de 100 μL de isopropanol acidificado (1 μL de HCl concentrado a cada 1 mL de isopropanol) por poço.

A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro (BIORAD®) de placas a 570 nm, com agitação prévia das placas por 300 segundos (5 min) antes de cada leitura para solubilizar os cristais e homogeneizar a cor. Determinou-se a média das replicatas de cada concentração e calculou-se a porcentagem de células viáveis em relação ao controle negativo através da fórmula abaixo:

% de células vivas em relação ao controle negativo	$= \frac{(\text{média absorbância do teste} - \text{média absorbância do branco})}{(\text{média absorbância do controle negativo} - \text{média absorbância do branco})} \times 100$
--	--

Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (SEM). Para avaliação da citotoxicidade buscou-se encontrar a concentração capaz de induzir morte celular em no mínimo 50% das células (CI_{50}) no tratamento de 24 horas (SUFFNESS; PEZZUTO, 2009). Cada ensaio foi acompanhado por um controle positivo doxorrubicina 50 g.mL^{-1} e controle negativo por células não tratadas.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PARÂMETROS FARMACOPEICOS

4.1.1 Determinação de água

Após análise verificou-se que o material vegetal utilizado no estudo apresentou um teor de água de $9,93\% \pm 0,02$. O teor máximo de umidade estabelecido nas diferentes farmacopeias varia entre 8 e 14%, com poucas exceções especificadas em monografias (BRASIL, 2010). A presença de água (umidade) em matéria prima vegetal permite a ação de enzimas, podendo acarretar a degradação dos constituintes químicos, além de possibilitar o desenvolvimento de fungos e bactérias (FARIAS, 2003). O material vegetal utilizado no estudo apresenta teor de água dentro da faixa recomendada, condições pouco prováveis para permitir a ação enzimática bem como desenvolvimento de fungos e bactérias.

O teor de água ou umidade é importante para o conhecimento básico, podendo ser utilizado como parâmetro para o controle de qualidade vegetal, possibilitando a segurança para análises posteriores, na preparação de extratos, rendimento e identificação dos constituintes (FARIAS, 2003) e controle microbiológico para o armazenamento (FORD; TIMMINS, 1989).

4.1.2 Determinação de cinzas totais

Após análise verificou-se que o material vegetal utilizado no estudo apresentou teor de $4,33 \pm 0,2$ de cinzas.

O material vegetal é produto orgânico e apresenta componentes de matéria inorgânica representados por carbonatos, fosfatos, cloretos e óxidos de: silício, magnésio, cálcio, potássio, alumínio, ferro e sódio. Esse componente inorgânico próprio da constituição da droga vegetal é denominado de intrínseco e difere do componente inorgânico de origem externa, por exemplo, areia, pedra, gesso e terra. Podem ser

originários de más preparações, falsificações ou característicos de manejo inadequado e até mesmo adulterações para influenciar no peso final.

A determinação do teor de cinzas permite a verificação de impurezas inorgânicas não voláteis que podem estar presentes como contaminantes no material vegetal (FARIAS, 2003). É representado pela soma de material inorgânico integrante da espécie (cinzas intrínsecas) com as substâncias aderentes de origem terrosa (cinzas extrínsecas) (BRAGA *et al.*, 2007). Não foi localizado na Farmacopeia Brasileira informações sobre o limite máximo de cinzas para a espécie, porém o resultado da determinação de cinzas totais apresenta-se abaixo de 14%, conforme os limites estabelecidos nas monografias de diversas drogas vegetais descritas.

4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Resultados obtidos a partir das análises fitoquímicas de caráter qualitativo para o material vegetal constituído por folhas de *Bauhinia unguolata* L. podem ser visualizadas nas TABELAS 5 e 6.

Algumas classes de substâncias podem ser caracterizadas diretamente em tecidos vegetais, porém, na maioria das vezes é necessário a extração de um determinado grupo de compostos com solvente adequado, e então caracterizá-lo. Geralmente essa caracterização é realizada pelo emprego de reações químicas que resultam no desenvolvimento de coloração e/ou precipitação característicos (FALKENBERG; SANTOS; SIMÕES, 2003).

Com relação à metodologia utilizada, as reações qualitativas para caracterização de alcalóides baseiam-se na formação de complexos insolúveis (precipitados). Na avaliação quanto a presença de alcaloides a amostra da planta seca demonstrou positividade para o teste, ocorrendo o aparecimento de precipitado de cor laranja avermelhado para o reagente de Dragendorff que constitui uma solução de iodo bismutado de potássio $K(BiI_4)$ em ácido diluído que forma precipitados laranja avermelhados quando em contato com alcaloides e compostos nitrogenados.

TABELA 5 – RESULTADOS DOS ENSAIOS FITOQUÍMICOS PARA AS FRAÇÕES DO EXTRATO HIDROALCOÓLICO 20% OBTIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

METABÓLITOS VEGETAIS		AMOSTRA			
		FH	FCL	FAE	FR
Alcalóides	Reativo Mayer	-	-	-	-
	Reativo Dragendorff	-	+	+	+
	Reativo Bouchardat	-	-	-	-
	Reativo Bertrand	-	-	-	-
Leucoantocianidinas		+	-	+	-
Flavonoides	Heterosídeos flavônicos	-	-	+	-
	Oxálico-Bórico	-	+	+	-
Cumarinas	tubo	-	-	-	-
	papel	-	-	-	-
Heterosídeos Antraquinônicos		+	-	-	-
Esteroides/Triterpenos	Liebermann-Burchard	cor amarelo	cor rosa	cor amarelo	cor verde
	Keller Kelliani	-	-	-	-

Legenda: (+) positivo; (-) negativo. FH=Fração Hexano, FCL=Fração Clorofórmio, FAE=Fração Acetato de Etila, FR=Fração Hidroalcoólica Residual.

Como se trata de uma reação não específica para alcalóides, resultados falso-positivos podem ser comuns (SANTOS, 2003), portanto, o resultado é apenas sugestivo. Quando a reação foi realizada utilizando outros reagentes para a detecção de alcalóides os resultados foram negativos. A presença de alcaloides foi detectada em outras plantas do gênero, de acordo com a literatura, como a *B. candicans* que contém o alcaloide trigonelina (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002), e alcaloides β -carbolínicos harmano e eleagnina já foram identificados na *B. unguolata* (MAIA NETO, 2008).

Positividade ocorreu com a FAE e FR na pesquisa de leucoantocianidinas, em que se observou o aparecimento de coloração vermelha.

Resultados positivos foram demonstrados também através da coloração vermelha para a pesquisa de heterosídeos flavônicos na fração acetato de etila da *B. unguolata* e no aparecimento de coloração amarela fluorescente sob luz ultravioleta, no teste que utiliza oxálico bórico, para a fração hexano e fração acetato de etila, sugerindo a presença de flavonóis. Estudos realizados com outras plantas do gênero mostram a presença de quercetina e quercitrina, exemplos de flavonóis observados na *B. purpúrea* e *B. tomentosa*, respectivamente (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002). Os flavonoides são compostos encontrados no gênero *Bauhinia* e vários estudos com plantas do gênero reportam o isolamento e identificação de compostos pertencentes a esta classe (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002; REDDY *et al.*, 2003; ESTRADA *et al.*, 2005; WU *et al.*, 2009a).

Ocorreu a formação de coloração vermelha com as frações hexano e fração acetato de etila quando realizada a pesquisa por heterosídeos antraquinônicos, sugerindo desta forma a presença de naftoquinonas e/ou antraquinonas.

Para a pesquisa de esteroides/triterpenos foi observada a formação de coloração amarela com as frações hexano e acetato de etila, e este resultado indica a possível presença de um composto que apresenta um grupamento metila no carbono 14 em sua fórmula estrutural. Para a fração clorofórmio foi observado a formação de coloração rosa que possivelmente sugere a presença de um composto que apresenta na sua fórmula estrutural uma função carbonila na posição 3 e dupla ligação entre os carbonos 5 e 6. Para a fração hidroalcoólica residual foi observado a formação de coloração verde que sugere também a presença de um composto que apresenta na sua fórmula estrutural uma função carbonila na posição 3 e dupla ligação entre os carbonos 5 e 6 (MIGUEL, 2003). Esteroides são uma classe de compostos químicos encontrados muito comumente em plantas do gênero pesquisadas. É o caso da *B. candicans*, *B. forficata*, *B. guianensis*, *B. manca*, *B. splendens*, *B. uruguayensis*, *B. vahlii*, *B. variegata*. Com relação aos triterpenos a literatura reporta a presença na *B. vahlii* e *B. variegata* (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002).

A pesquisa utilizando o extrato aquoso (TABELA 6) obteve resultado negativo para a presença de heterosídeos antociânicos. Para a presença de heterosídeos

saponínicos o ensaio também demonstrou resultado negativo, pois não houve formação de espuma maior ou igual a um centímetro.

TABELA 6 - RESULTADOS DOS ENSAIOS FITOQUÍMICOS COM O EXTRATO AQUOSO OBTIDO A PARTIR DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

ANÁLISE	EXTRATO AQUOSO
Heterosídeos antociânicos	-
Heterosídeos saponínicos	-
Heterosídeos cianogênicos	-
Taninos hidrolisáveis	-
Taninos condensados	+
Aminogrupos	+
Ácidos fixos	+
Ácidos voláteis	-

Legenda: (+) positivo; (-) negativo.

Não foi detectada a presença de heterosídeos cianogênicos no ensaio tendo em vista a ausência de coloração vermelha na tira de papel picro-sódico utilizado.

Na pesquisa de taninos não foi observado a presença de taninos hidrolisáveis e polifenóis, tendo em vista a não ocorrência de coloração azul e marrom respectivamente, utilizando como reagente o cloreto férrico. Quando a busca foi pela presença de taninos condensados, o resultado foi considerado positivo tendo em vista ocorrência de coloração verde quando o resíduo do papel de filtro foi lavado com solução de álcool 50% e gotejadas algumas gotas de KOH a 5%.

Na pesquisa de ácidos voláteis o valor do pH observado na fita foi superior a 7 sugerindo a ausência destes compostos.

Na pesquisa de ácidos fixos houve formação de coloração marrom quando o reativo de Nessler foi gotejado sobre uma das manchas do resíduo amoniacal do extrato em tira de papel de filtro, conferindo positividade ao teste e sugerindo a presença de ácidos fixos.

Os ensaios fitoquímicos preliminares foram realizados com o objetivo de servirem de guia para o isolamento de substâncias, informando quais são os principais grupos de metabólitos presentes na amostra. Os resultados obtidos coincidem com a composição da família descrita na literatura, com a presença principalmente de alcaloides, flavonoides, esteroides e triterpenos. A partir destes ensaios foi possível

estabelecer estratégias para a obtenção de compostos isolados pertencentes à determinados grupamentos químicos, principalmente os flavonoides.

Com relação ao teor de resíduo sólido o resultado obtido foi de 25,95 g%. A obtenção de Sólidos Totais ou Matéria Seca é realizada para se interpretar quantitativamente a presença total de matéria que não seja água, em uma amostra, seja na forma de substâncias dissolvidas, coloidais ou em suspensão. O teor de sólidos totais e da matéria seca é obtido pela pesagem do resíduo da evaporação de uma amostra, que corresponde ao resíduo da desidratação da amostra e é utilizado para calcular a quantidade de amostra para os ensaios sem a presença de água.

4.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO ETANÓLICO

A TABELA 7 ilustra a quantidade de extrato etanólico obtido a partir do material vegetal utilizado e seu rendimento.

TABELA 7 – RENDIMENTO DO EXTRATO DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

Planta Seca (g)	Extrato etanólico (g)	Rendimento planta seca (%)
1.500	400	26,66

Das 400 g de extrato obtidos, 50 g foram utilizados para a realização dos ensaios biológicos, e o restante, 350 g foram destinado ao fracionamento.

4.4 FRACIONAMENTO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS

4.4.1 Fracionamento do Extrato Bruto Etanólico de *Bauhinia unguolata*

O extrato bruto etanólico (350 g) foi submetido à partição líquido/líquido com solventes de polaridade crescente obtendo-se as frações denominadas fração hexano

(FH), fração clorofórmica (FCI), fração acetato de etila (FAE) e a fração residual foi denominada fração hidroalcoólica residual (FR).

Do fracionamento deste extrato foram obtidas as frações com os seguintes rendimentos: FH (10,2150 g), FCI (15,1545 g), FAE (10,3138 g) e FR (13,1780 g). Os rendimentos em gamas e em porcentagem são demonstrados na TABELA 8.

TABELA 8 – RENDIMENTO DAS FRAÇÕES OBTIDAS DO EXTRATO BRUTO DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

FRAÇÃO	RENDIMENTO (g)	RENDIMENTO (%)
Hexânica	10,2150	26,49
Clorofórmica	15,1545	39,31
Acetato de etila	10,3138	26,75
Residual	13,1780	34,18
TOTAL	38,5475	

4.4.2 Isolamento dos compostos da FAE

Com a realização da cromatografia em coluna com a FAE foram recolhidos 49 frascos contendo aproximadamente 10 ml de eluato que foram levados a secura em temperatura ambiente para cristalização dos compostos. Os frascos de número 15 a 37 (3,67 g) foram reunidos, tendo em vista apresentarem mesmo perfil cromatográfico por análise em placas de CCDs e CLAE.

O método cromatográfico para obtenção do perfil dos constituintes na CLAE consistiu de uma corrida empregando-se o seguinte gradiente: 0 a 15 minutos com fase ácida:acetonitrila (98:2) (V/V); 15 a 20 minutos fase ácida:acetonitrila (69:31) (V/V); 20 a 21 minutos fase ácida:acetonitrila (60:40) (V/V); 21 a 35 minutos fase ácida:acetonitrila (98:2) (V/V); com fluxo de 1mL/ min e injeção de 20 µL. A fase ácida foi composta por solução de ácido sulfúrico 0,02 N e ácido fosfórico 0,2 %.

O cromatograma analítico, utilizado para monitorar o perfil dos compostos, foi obtido em 300 nm e está apresentado na FIGURA 9, sendo possível verificar a presença de 6 picos.

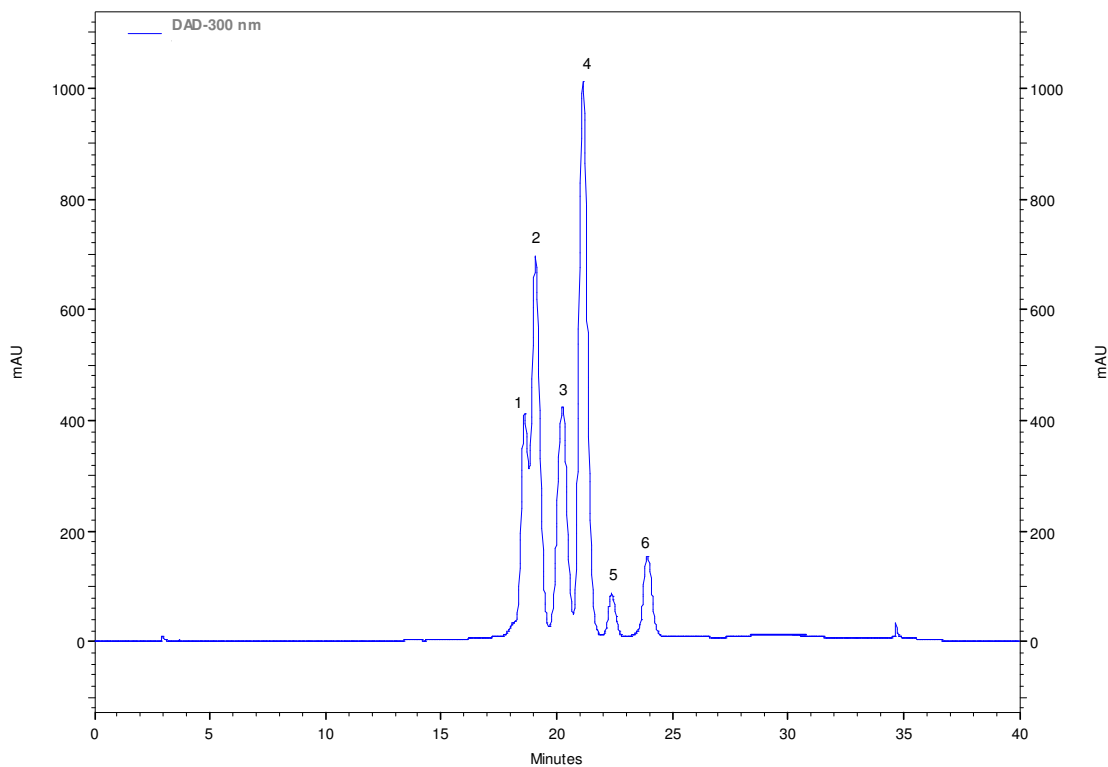


FIGURA 9 – CROMATOGRAMA OBTIDO A PARTIR DA FRAÇÃO ACETATO DE ETILA COM A REUNIÃO DOS FRASCOS 15-37 DA CROMATOGRAFIA DE COLUNA EM 300 nm

A partir do cromatograma analítico partiu-se para o isolamento dos compostos presentes na amostra utilizando a CLAE em condições semi-preparativas com o mesmo gradiente anterior. Foi utilizado 1,0 g da amostra solubilizada em 20 mL de metanol. Os compostos foram recolhidos separadamente após injeções de 100 μ L da amostra. Foram realizadas 90 injeções, e os conteúdos finais da coleta foram submetidos à extração em funil de separação (para retirada da fase aquosa ácida) utilizando acetato de etila como solvente extrator. O solvente foi então evaporando em banho maria para obtenção dos compostos isolados.

Os compostos isolados foram denominados como BAU1 (composto 1), BAU2 (composto 2), BAU4 (composto 4), BAU5 (composto 5) e BAU6 (composto 6). No frasco contendo o composto denominado BAU3 (composto 3), após a evaporação do solvente, foi observado o aparecimento de depósito de cor amarelada no fundo, e nas paredes

depósito de coloração alaranjada. Estes depósitos foram separados (limpeza das paredes com um algodão embebido em metanol), e denominados BAU3A (fundo do frasco) e BAU3A1 (paredes do frasco).

De acordo com o cromatograma da FIGURA 9, BAU1 foi coletado no tempo 18,20 minutos, BAU2 no tempo 18,95 minutos, BAU3 (BAU3A e BAU3A1) em 19,95 minutos, BAU4 em 21,0 minutos, BAU5 em 22,01 minutos e BAU6 em 23,8 minutos da corrida.

O conteúdo sólido dos frascos que correspondem aos compostos isolados foram pesados obtendo os rendimentos descritos na TABELA 9.

TABELA 9 – RENDIMENTO DOS COMPOSTOS ISOLADOS DA FAE OBTIDA DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata*

COMPOSTO ISOLADO	PESO (mg)	RENDIMENTO (%)
BAU1	2,1	0,46
BAU2	43,4	9,64
BAU3A	21,1	4,70
BAU3A1	18,5	4,11
BAU4	20,1	4,47
BAU5	4,3	4,56
BAU6	6,3	1,40

Nota: rendimento considerando 450 mg de amostra relativos à quantidade de 90 injeções

4.4.3 Identificação dos compostos da FAE

Os compostos identificados foram BAU2, BAU3A, BAU4, BAU5 e BAU6.

4.4.3.1 Identificação estrutural de BAU2

A análise foi realizada a partir do espectro de ressonância magnética nuclear de ^1H obtido a uma frequência de 200,13 MHz (FIGURA 10) e do espectro de RMN de ^{13}C na frequência de 50,32 MHz (FIGURA 11).

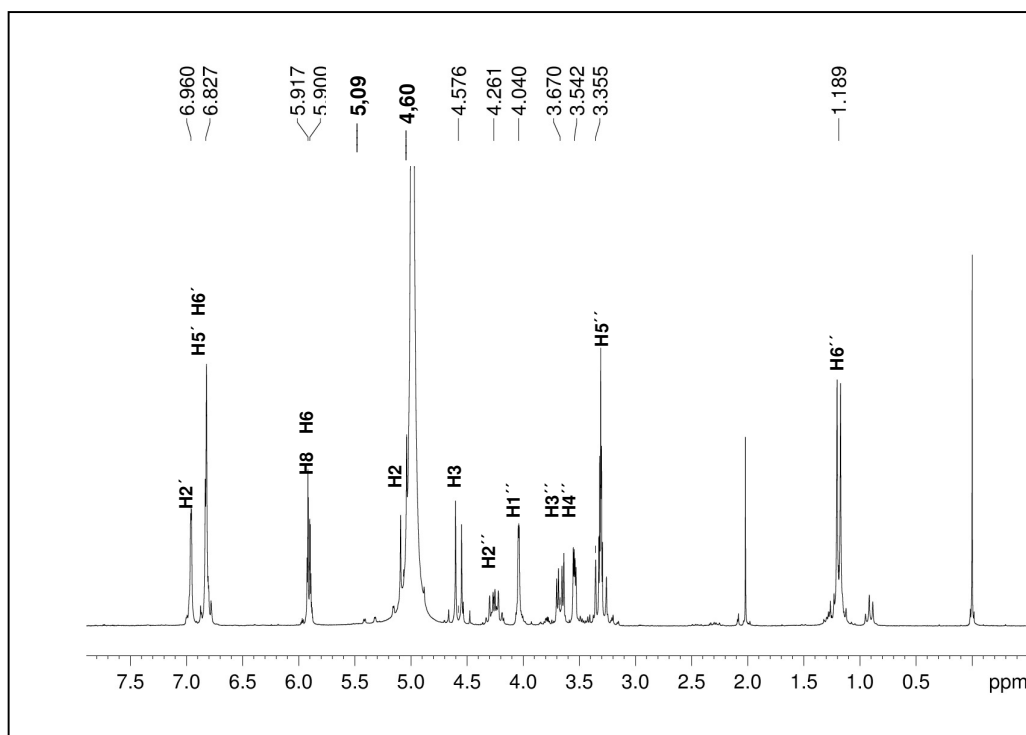


FIGURA 10 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU2

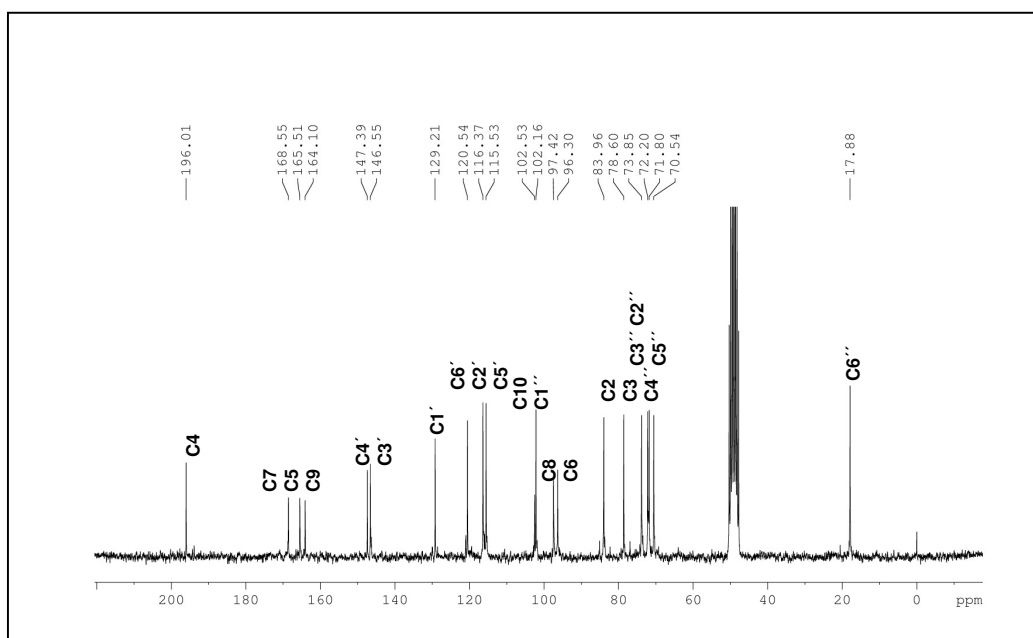


FIGURA 11 – ESPECTRO DE RMN de ^{13}C (50,32 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU2

A amostra encontra-se em mistura e a identificação do composto majoritário foi feita por comparação (TABELA 10) dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos com o composto BAU2 com aqueles descritos por Huang *et al.* (2011a) para o flavonóide astilbina (3-O- α -ramnosídeo de taxifolina ou diidroquercetina-3-O- α -ramnosídeo). A FIGURA 12 ilustra a estrutura química da astilbina.

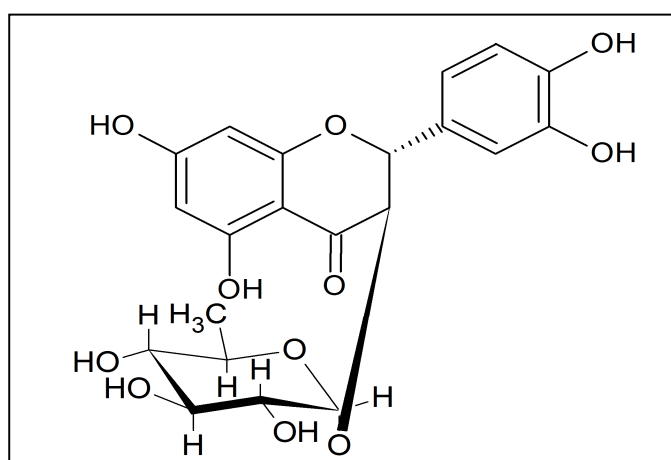


FIGURA 12 – ESTRUTURA QUÍMICA DA ASTILBINA

Pode-se observar no espectro de ^1H (FIGURA 10) a presença de dois dubletos centrados em δ 5,09 ($J=10,6$ Hz; H-2), δ 4,60 ($J=10,6$ Hz; H-3) os quais foram atribuídos aos hidrogênios H-2 e H-3, respectivamente. A constante de acoplamento apresentada por estes dois dubletos ($J= 10,6$ Hz) sugere um acoplamento do tipo *trans*. As constantes de acoplamento dos dubletos em δ 5,90 ($J=2,1$ Hz; H-6), δ 5,92 ($J=2,1$ Hz; H-8) indicam que estes dois hidrogênios estão acoplado em meta e ligados aos carbonos 6 e 8 da estrutura do diidroflavonoide. Os sinais em δ 6,96 (d; $J= 1,4$ Hz; H-2'), δ 6,82 (m; H-5') e δ H 6,82 (m; H-6') corroboram o padrão 1,3,4 – tri-substituído para o anel B, o valor dos deslocamentos químicos dos três hidrogênios comprova a presença de OH nas posições 3' e 4'.

TABELA 10 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ^{13}C E ^1H (50,32 MHz, 200,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU2 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA ASTILBINA

Posição	RMN de ^{13}C Literatura*	RMN de ^{13}C * BAU2	RMN de ^1H Literatura*	RMN de ^1H * BAU2
2	83,96	83,96	5,08 (1H, d, $J=10,8$ Hz)	5,09 (1H, d, $J=10,6$ Hz)
3	78,56	78,60	4,58 (1H, d, $J=10,4$ Hz)	4,6 (1H, d, $J=10,6$ Hz)
4	196,00	196,01		
5	165,52	165,50		
6	97,37	97,42	5,89 (1H, d, $J=2,0$ Hz)	5,90 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
7	168,62	168,55		
8	96,25	96,30	5,91 (1H, d, $J=2,0$ Hz)	5,91 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
9	164,11	164,10		
10	102,48	102,53		
1'	129,18	129,16		
2'	116,3	116,37	6,95 (1H, d, $J=1,6$ Hz)	6,96 (1H, d, $J=1,4$ Hz)
3'	146,54	146,55		
4'	147,38	147,39		
5'	115,46	115,53	6,85 (1H, m)	6,82 (1H, m)
6'	120,48	120,54	6,85 (1H, m)	6,82 (1H, m)
1''	102,14	102,16	4,04 (1H, d, $J=1,6$ Hz)	4,04 (1H, d, $J=1,7$ Hz)
2''	71,77	71,80	4,28 (1H, m)	4,26 (1H, m)
3''	72,15	72,20	3,67 (1H, dd, $J=9,6; 3,2$ Hz)	3,67 (1H, dd, $J=9,4; 3,2$ Hz)
4''	73,79	73,85	3,53 (1H, dd, $J=3,2; 1,6$ Hz)	3,54 (1H, dd, $J=3,2; 1,6$ Hz)
5''	70,50	70,54	3,32 (s)	3,35 (s)
6''	17,85	17,88	1,18 (3H, d, $J=6,0$ Hz)	1,18 (3H, d, $J=6,2$ Hz)

* HUANG *et al.* (2011a). CD_3OD (metanol deuterado). Valores são dados em ppm relativos ao sinal do TMS como padrão interno. Números em parêntese demonstram constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Sinais: s=simpleto, d=doubleto, dd=duplo doubleto, m=multiplero

Devido a presença de sinais na região entre δ 3,35 e δ 4,26 ppm é possível afirmar que trata-se de flavonoide glicosídeo, pois esta região é característica de açúcares. O açúcar ligado foi identificado como ramnose pela presença do próton em 1,18 do grupo metila (d; $J=6,2$ Hz; H-6”), típico desta molécula (LU, FOO, 1999). O sinal em δ 4,04 (d; $J=1,7$; H-1”) indica que trata-se de um α glicosídeo (DU, LI, JERZ, 2005).

O espectro de RMN de ^{13}C (FIGURA 11) apresentou 21 sinais dos quais pode-se destacar o sinal da carbonila em C-4 em δ 196 além de 5 sinais de carbono sp^2 oxigenados em δ 168,5; 165,5; 164,1; 147,4 e 146,5 atribuídos aos C-7, C-5; C-9; C-4' e C-3' respectivamente. O espectro apresentou também um conjunto de sinais na região de δ 70-85 característico de glicosídeos, além de um sinal em δ 102,1 característico do carbono anomérico em C-1''. O sinal em δ 17,88 é atribuído ao carbono metílico C-6” que permitiram caracterizar, junto com os sinais anteriores, a unidade monosídica como sendo uma ramnose (REGASINI *et al.*, 2008)

Este é o primeiro relato da presença deste composto nas folhas de *B. unguolata*. A astilbina, em mistura, apresentou coloração amarelada e possui fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$ e massa molar de 450,39 g/mol. É um diidroflavonol já detectado no mesmo gênero, nas folhas de *B. megalandra* (ESTRADA *et al.*, 2005) e *B. aurea* (SHANG *et al.*, 2007).

A astilbina foi detectada em outros gêneros e espécies como, por exemplo, na *Smilax* spp. (ZHANG *et al.*, 2012) na *Hymenaea martiana* (jatobá) (CARNEIRO *et al.*, 1993) *Engelhardia roxburghiana* (HUANG *et al.*, 2011b), *Engelhardia chrysoleois* (MOTOYASHIKI *et al.*, 1998), na casca do caule de *Flindersia australis* (REISCH, HUSSAIN, MESTER, 1984), *Hypericum perforatum* (TATSIS *et al.*, 2007), gênero *Eperua aublet* (LEANDRO; VEIGA JUNIOR, 2012), rizoma da *Smilax glabra* Roxb (CHEN *et al.*, 2007; ZHANG *et al.*, 2013a), *Bafodeya benna* (XU *et al.*, 2011), *Andira anthelmia* (DA SILVA *et al.*, 2007), *Andira fraxinifolia* (DA SILVA *et al.*, 2006), *Pterogyne nitens* (REGASINI *et al.*, 2008a), *Licania pittieri* (ESTRADA *et al.*, 2009), *Heteropterys aphrodisiaca* (GALVÃO *et al.*, 2011), *Harungana madagascariensis* (MOULARI *et al.*, 2006), *Heteropteris afrodisiaca* (MARQUES *et al.*, 2007) presente na uva e consequentemente encontrada no vinho (LANDRAULT *et al.*, 2002; GUEBAILIA *et al.*, 2006).

É pouco absorvida por via oral, apresentando baixa biodisponibilidade (WANG *et al.*, 2009). Guo *et al.* (2007) demonstraram a presença de um metabólito ativo da astilbina, identificado como 3'-O-metilastilbina após incubação do composto com as frações microsomal/citosólica hepática de ratos, caracterizado por técnicas de ressonância magnética nuclear e espectroscopia de massas. Este metabólito ativo também foi detectado no sangue e na urina dos animais após a administração da astilbina por via oral.

Como potencial farmacológico apresenta atividades imunossupressora (GUO *et al.*, 2007), antioxidante (HARAGUCHI *et al.*, 1996), inseticida (PEREIRA *et al.*, 2002), antibacteriana (MOULARI *et al.*, 2007), anti-hiperuricêmica e nefroprotetora (CHEN *et al.*, 2011a) antinociceptiva e antiedematogênica (CECHINEL-FILHO *et al.*, 2000).

Diao *et al.* (2014) demonstraram em um estudo realizado com ratos que a astilbina é capaz de proteger a função miocárdica da isquemia e reperfusão (I/R) nos estágios iniciais do diabetes induzido por estreptozotocina. Este flavonoide foi capaz de diminuir o volume da área infartada, melhorar a hemodinâmica e aliviar o dano ao miocárdio. Estes efeitos estão correlacionados com a redução dos níveis séricos de fatores pró-inflamatórios e redução da proteína HMGB1 (*High mobility group box 1*) e NFκB (fator nuclear Kappa B) fosforilado no tecido do miocárdio dos ratos diabéticos, o qual é um mecanismo potencial para o controle da resposta inflamatória e aumento da resistência a lesão I / R na fase inicial da diabetes.

Lucas-Filho *et al.* (2010) observaram que a astilbina é capaz de promover uma inibição da enzima conversora de angiotensina similar ao captopril, considerando a mesma como uma molécula promissora para atividade anti-hipertensiva.

Zou *et al.* (2010) demonstraram uma ação inibitória dose dependente da astilbina em modelo de rejeição aguda de transplante cardíaco heteroreópico vascularizado em camundongos. Estudos citológicos comprovaram que astilbina inibiu a proliferação e ativação de células T assim como a morfologia e maturação funcional de células dendríticas sendo considerado pelos autores uma substância promissora para a terapia imunossupressora que pode apresentar menos efeitos colaterais.

Com relação a atividade antioxidante Petacci *et al.* (2010) verificaram os efeitos dose dependente da astilbina sobre a inibição da mieloperoxidase (MPO) e peroxidase

horseradish (HRP), demonstrando ser um potente antioxidante e inibidor destas enzimas.

A Astilbina apresentou potencia equivalente a quercetina, utilizada como controle positivo, na inibição da formação de produtos finais da glicação avançada (AGEs) (WIRASATHIEN *et al.*, 2007) que são lipídios ou proteínas que se tornam glicosados após a exposição a açúcares oxidados e que atuam modificando proteínas intracelulares relacionadas com a regulação gênica, interferindo na sinalização celular e ainda estimulando a produção de citocinas inflamatórias. Este é um dos principais mecanismos patogênicos responsáveis pelos danos celulares e teciduais relacionados ao estresse oxidativo no diabetes além de suas complicações como neuropatia diabética, catarata, dano vascular entre outros (BARBOSA; OLIVEIRA; SEARA, 2009). Ainda no mesmo trabalho os autores testaram a atividade inibitória deste flavonóide sobre enzima aldose redutase, enzima também associada com o desenvolvimento de complicações do diabetes, e observaram uma potência cerca de 10 vezes menor do que a quercetina (WIRASATHIEN *et al.*, 2007).

A astilbina demonstrou apresentar forte atividade antibacteriana frente as bactérias Gram negativas (*Acinetobacter* sp., *Moraxella* sp.) e as gram positivas (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis*) testadas, e de acordo com os autores esta atividade esta relacionada com a estrutura química deste composto, sendo observado ser essencial a presença de grupos na posição 3, 4-hidroxila de sua estrutura, além de uma dihidroxilação nas posições 5 e 7, já que as flavanonas que não apresentam estes grupo são inativas (MOULARI *et al.*, 2006).

Um estudo avaliou o efeito da astilbina sobre a liberação de insulina de ilhotas de langherhans de ratos, e concluiu que ela não é agente que estimula a liberação (NGUYEN *et al.*, 2012).

CINTRA *et al.* (2002) realizaram bioensaios com extratos metanólicos da espécie *D. mollis* utilizando a antera contendo grãos de pólen, as inflorescências, os pedúnculos florais e os caules. Todos mostraram efeitos tóxicos, e a partir destes extratos foi possível isolar a astilbina que quando avaliadas isoladamente apresentou efeitos tóxicos semelhantes aos extratos. Foi verificado ainda que a substância astilbina

é uma das principais componentes dos grãos de pólen, sugerindo que ela seja uma das responsáveis pela mortalidade de abelhas no período de floração dessas espécies.

Astilbina inibiu significativamente a dermatite de contato em orelha e dano hepático imunológico quando administrado durante a elicitación (FEI, WU; XU, 2005) (fase que ocorre após o contato com o hapteno em um indivíduo previamente sensibilizado resultando na dermatite de contato alérgica), mas não a sensibilização na hipersensibilidade tipo tardia. O mecanismo de ação inclui indução seletiva da apoptose no infiltrado hepático de linfócitos T e células ativadas no baço, estimulação da citocina reguladora negativa interleucina-10 e supressão da adesão de células T ativadas e migração celular (FEI; WU; XU, 2005; YI *et al.*, 2008).

Este composto também preveniu o dano hepático no modelo induzido por concanavalina através da redução da produção do fator de necrose tumoral (TNF-alfa) e ativação da adesão de linfócitos T (WANG; ZHAO; XU, 2004). Esta atividade conduz a menos efeitos colaterais do que outros imunossuppressores seletivos ou não seletivos (CAI; CHEN; XU, 2003a). O tratamento contínuo com a astilbina não demonstrou toxicidade em animais quando comparada a ciclosporina A que apresenta intensos efeitos sobre a função renal e doença cardiovascular (CAI; CHEN; XU, 2003b). De acordo com o autor, este flavonóide pode apresentar vantagens interessantes do ponto de vista clínico em relação aos imunossuppressores utilizados atualmente.

Um estudo avaliou o efeito da astilbina e engeletina sobre a produção de PGE₂ polissacarídeo estimulada, por macrófagos murinos da linhagem RAW 264. O resultado mostrou que o composto possui potente atividade inibitória sobre a liberação de PGE₂, neste modelo, sugerindo desta forma efeito anti-inflamatório. Entretanto, quando avaliadas em modelos de produção de óxido nítrico, estes compostos não apresentaram atividade (RUANGNOO *et al.*, 2012).

Galotta *et al.* (2008) avaliaram a atividade antioxidante da astilbina isolada de *Euterpe precatoria* Mart. (açai), além de extratos e outros compostos isolados. Observaram que a astilbina apresenta atividade antioxidante, mas que a mesma foi inferior aos extratos, quercetina, catequinas, epicatequinas e BHT usado como controle. De acordo com Burda e Oleszek (2001), essa menor atividade em comparação com outros flavonoides pode ser explicada pela ausência de dupla ligação entre C2 e C3

(anel C) além da presença de um açúcar (ramnose) na estrutura que reduz a atividade antioxidante.

Morena e Pérez (1999) observaram um efeito hepatoprotetor induzido pela astilbina frente a um modelo animal tratado com tetracloreto de carbono observado por uma diminuição dos níveis de lipoperóxidos da transaminase pirúvica e da fosfolipase A2. Também foi observado que este flavonóide é capaz de melhorar a função renal em modelos de nefropatia diabética (LI *et al.*, 2009), cicatrização de feridas (KIMURA *et al.*, 2007) mas não foi eficaz na redução dos níveis séricos de ácido úrico em ratos (HUANG *et al.*, 2011b).

Fanzone *et al.* (2010) analisaram uma variedade de uva chamada Malbec (*Vitis vinifera* L.) utilizada no preparo de vinho e encontraram concentrações de astilbina que variam de 9,1 to 16,3 mg.L⁻¹. Já Landrault *et al.* encontraram 15,13 mg.mL⁻¹ na variedade Egidola, 11,61 mg.mL⁻¹ na Merlot, 8,24 mg.mL⁻¹ na Cabernet Sauvignon e 5,04 mg.mL⁻¹ para vinho branco varietal.

Astilbina mostrou significativo efeito inibitório sobre a xantina oxidase *in vitro* (XU *et al.*, 2013), que é uma enzima que catalisa a oxidação da hipoxantina em xantina e desta em ácido úrico, causador da gota e hiperuricemia. Além disso, é considerada uma das principais fontes biológicas do ânion superóxido, precursor de espécies reativas importantes, como o radical hidroxil e o oxigênio singlete, os quais participam da peroxidação lipídica.

4.4.3.2 Identificação estrutural de BAU3A

A análise do composto BAU3A foi realizada a partir do espectro de ressonância magnética nuclear ¹H obtido a uma frequência de 400,13 MHz (FIGURA 13) e do espectro de RMN de ¹³C na frequência de 100,61 MHz (FIGURA 14).

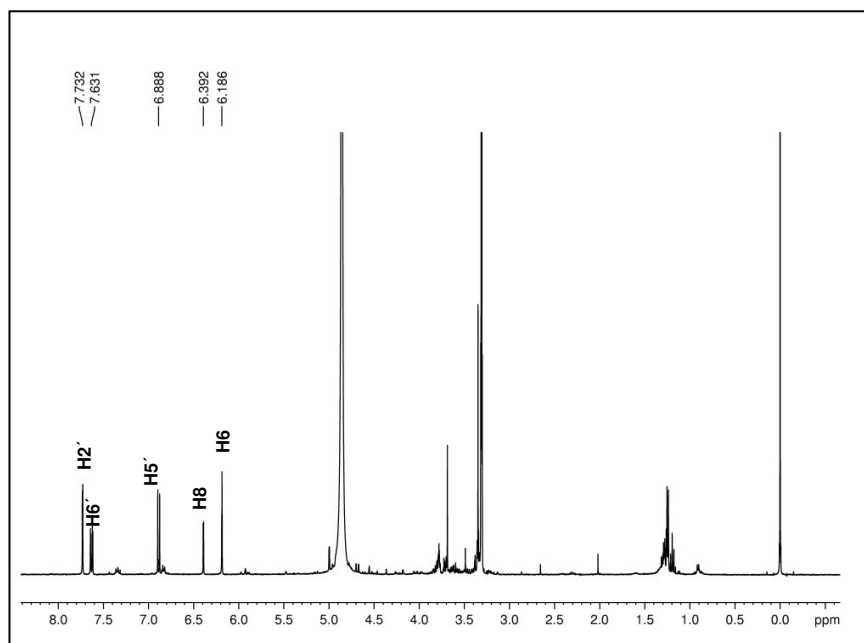


FIGURA 13 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (400,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU3A

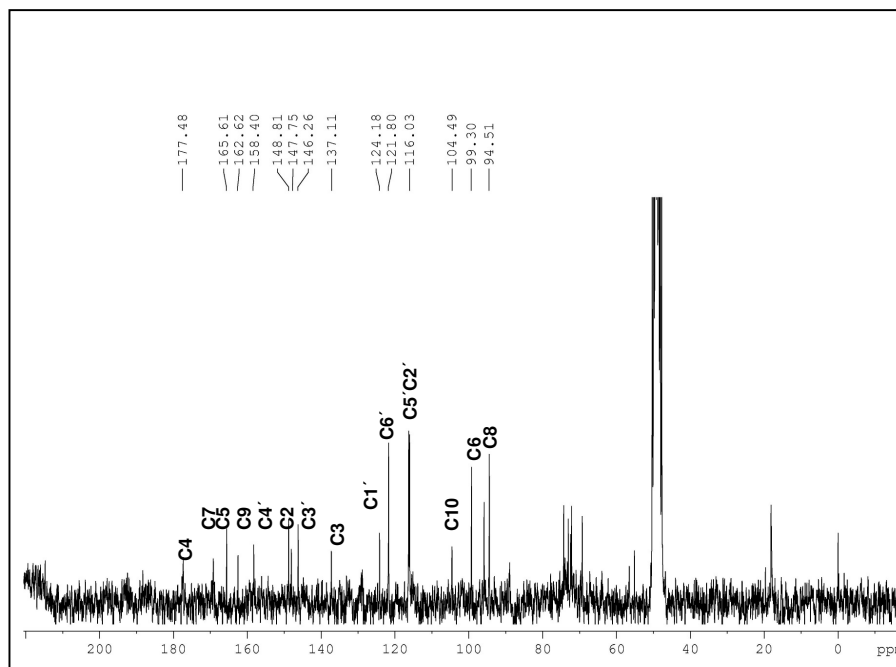


FIGURA 14 – ESPECTRO DE RMN de ^{13}C (100,61 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU3A

A amostra encontra-se em mistura e a identificação do composto majoritário foi feita por comparação (TABELA 11) dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos com o composto BAU3 com aqueles descritos por Kalegari *et al.* (2011) para o flavonoide quercetina, uma aglicona. A FIGURA 15 ilustra a estrutura química da quercetina.

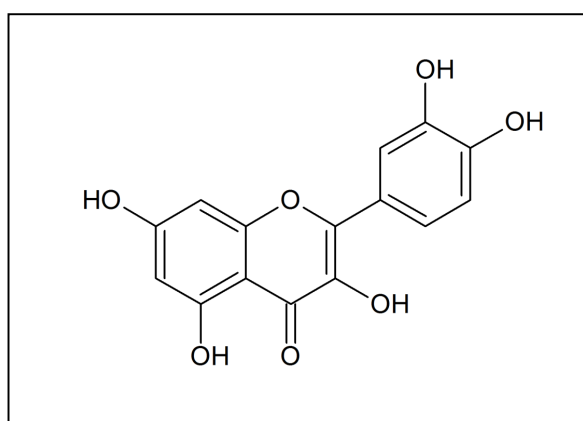


FIGURA 15 – ESTRUTURA QUÍMICA DA QUERCETINA

Observa-se no espectro de ^1H dois dubletos 6,18 (d; $J=2,1$; H-6) e (d; $J=2,1$; H-8), indicando o acoplamento em meta. Os sinais em δ 7,73 (d; $J= 2,2$ Hz; H-2'), δ 6,88 (d; $J= 8,5$; H-5') e δ H 7,63 (dd; $J= 8,5$ e $2,2$; H-6') corroboram o padrão 1,3,4 - trissubstituído para o anel B, o valor dos deslocamentos químicos dos três hidrogênios comprova a presença de OH nas posições 3' e 4'. Observa-se no espectro sinais na região de açúcares, porém a integração dos sinais indica que tais açúcares não se encontram ligados a este flavonoide.

Quercetina (3, 3', 4', 5, 7-pentaxidroxiflavona) apresenta coloração amarelada, fórmula molecular $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ e massa molar de 302,2 g/mol. É um flavonoide amplamente distribuído no reino vegetal, presente em muitas frutas e legumes, como maçã, alho, cebola, vinho tinto e chá preto. Pode também ser encontrada na forma glicosilada (ROCKENBACH *et al.*, 2013).

TABELA 11 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ^{13}C E ^1H (400,13 MHz, 100,61 MHz, PPM, CD_3OD) DA SUBSTÂNCIA BAU3A COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA QUERCETINA

Posição	RMN de ^{13}C Literatura*	RMN de ^{13}C	RMN de ^1H Literatura*	RMN de ^1H
2	147,8	147,7		
3	137,1	137,1		
4	177,2	177,4		
5	162,3	162,6		
6	99,1	99,3	6,17 (1H, d, J=2,1Hz)	6,18 (1H, d, J=2,0 Hz)
7	165,3	165,6		
8	94,4	94,3	6,36 (1H, d, J=2,1)	6,39 (1H, d, J=2,0 Hz)
9	158,1	158,4		
10	104,1	104,4		
1'	124,2	124,1		
2'	115,9	116,0	7,72 (1H, d, J= 2,1 Hz)	7,73 (1H, d, J= 2,2 Hz)
3'	148,5	146,2		
4'	146,2	148,8		
5'	116,1	116,0	6,8 (1H, d, J= 8,4 Hz)	6,8 (1H, dd, J= 8,5 Hz)
6'	121,6	121,8	7,6 (1H, dd, J= 8,7; 2,1 Hz)	7,6 (1H, dd, J= 8,5; 2,2 Hz)

* KALEGARI *et al.* (2011). CD_3OD (metanol deuterado). Valores são dados em ppm relativos ao sinal do TMS como padrão interno. Números em parêntese demonstram constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Sinais:d=dubleto, dd=duplo dubleto

Este flavonoide já havia sido isolado anteriormente nas folhas da *B. unguolata* (MAIA NETO, 2008). Com relação a outras plantas do gênero, já foi encontrada na *B. championii* (XU *et al.*, 2012), *B. longifolia* (DOS SANTOS *et al.*, 2014b), *B. malabarica* (PARK *et al.*, 2014), *B. megalandra* (ESTRADA *et al.*, 2005), *B. microstachya* (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002), *B. monandra* (ADEROGBA; OGUNDAINI; ELOFF, 2006), *B. purpúrea* (RAMACHANDRAN; JOSHI, 1967), *B. racemosa* (EL-HOSSARY *et al.*,

2000), *B. strychnifolia* (YUENYONGSAWAD *et al.*, 2013), *B. vahlei* (SULTANA *et al.*, 1985) e *B. variegata* (MOHAMED; MAMMOUD; HAYEN, 2009).

A quercetina foi identificada pela primeira vez como vitamina P e teve sua ação comprovada na manutenção da resistência e da integridade da parede dos capilares sanguíneos. Posteriormente, várias atividades biológicas foram relatadas, tais como, anti-hipertensiva, antiarítmica, hipocolesterolêmica, anti-hepatotóxica, anticarcinogênica (FORMICA; REGELSON, 1995), antiviral, antiulcerogênica, antitrombótica, anti-isquêmica, anti-inflamatória, antialérgica (INAL; KAHRAMAN, 2000; SHIRAI *et al.*, 2002) e antioxidante (FORMICA; REGELSON, 1995).

Estudos realizados nos últimos anos com este flavonoide vêm confirmando estas atividades e buscando comprovar novas aplicações para este composto. Os efeitos celulares da quercetina são considerados muitas vezes complexos. Foi observado que este flavonoide pode apresentar tanto propriedades antioxidantes, em baixas concentrações, como propriedades pró-oxidantes em concentrações mais elevadas (ROBASZKIEWICZ, BALCERCZYK, BARTOSZ, 2007; SCHMALHAUSEN *et al.*, 2007).

Estudos mostram que a quercetina da dieta pode ser um agente importante na prevenção do câncer (MURAKAMI, ASHIDA, TERAQ, 2008). Rockenbach *et al.* (2013) sugerem que a quercetina possa ter um efeito anti-proliferativo sobre células tumorais no câncer de bexiga e também demonstrou exercer quimioproteção contra câncer de próstata (SHARMILA *et al.*, 2013). Além disto, a associação quercetina e chá verde aumentou significativamente a inibição tumoral reforçando o efeito antiproliferativo e pró-apoptótico, na prevenção e tratamento do câncer de próstata (WANGA *et al.*, 2014). Também pode ser considerada um potencial para superar a resistência clássica em células cancerosas gástricas (BORSKA *et al.*, 2012).

Um estudo em ratos mostrou que a quercetina pode reduzir parcialmente o dano renal causado por inseticida organofosforado (HOU *et al.* 2014), demonstrando efeito nefroprotetor deste flavonoide (BECKMANN *et al.*, 2014).

Liu *et al.* (2014) concluíram que o pré-tratamento com quercetina promoveu proteção ao dano causado pelo infarto do miocárdio, por diminuição do estresse oxidativo, reprimindo a cascata inflamatória e inibindo a apoptose *in vivo*, além de

diminuir a dislipidemia (TANG *et al.*, 2012) e hepatotoxicidade causadas pelo etanol (TANG *et al.*, 2014) e por organofosforado (clorpirifós) (UZUN, KALENDER, 2013).

MATOUK *et al.* (2013) observaram que a quercetina quando associada ao losartan, foi capaz de produzir um efeito protetor adicional contra a cardiotoxicidade crônica promovida pela doxorrubicina por atividade anti-inflamatória e antioxidante. Além disso a quercetina pode ser considerada como um agente natural cardio-protetor promissor no infarto do miocárdio sozinha (CHEN, CHAN, CHOU, 2012; PRINCE, SATHYA, 2012; ZAAFAN *et al.*, 2013) ou combinada com atorvastatina (ZAAFAN *et al.*, 2013).

O pré-tratamento com quercetina diminuiu significativamente as alterações morfológicas e bioquímicas induzidas por ácido acético no cólon de ratos, sugerindo um possível papel deste flavonóide no tratamento da doença inflamatória intestinal (DODDA, CHHAJED, MISHRA, 2014). Potencial anti-inflamatório já havia sido descrito anteriormente em alguns estudos (BOOTS *et al.*, 2008; JEYADEVI *et al.*, 2013) além de ação anti-inflamatória tópica (LIN *et al.*, 2012), angiogênica (ZHAO *et al.*, 2014), redutora da aterosclerose (BHASKAR *et al.*, 2013),

Joshan e Singh (2013) demonstraram em um trabalho que a quercetina pode atenuar o eritema, diminuir a perda de água, aumentar os níveis de catalase, reduzir a peroxidação lipídica, atuando como agente fotoprotetor nos cuidados com a pele.

Um extrato obtido a partir da casca de cebola, rico em quercetina apresentou efeitos anti obesidade em ratos por suprimir a diferenciação de pré-adipócitos e inibir a adipogênese (MOON *et al.*, 2013).

Larson *et al.* (2012) observaram que a quercetina é capaz de reduzir a pressão arterial em indivíduos hipertensos por mecanismo não elucidado e efeito antitrombótico (LEE *et al.*, 2013), além disso Yu *et al.* (2013) observaram que este flavonóide pode ser ações anti-inflamatória e apresentar efeito anticoagulante semelhante a heparina, podendo ser um futuro candidato a terapêutica no tratamento e prevenção da coagulação intravascular disseminada.

Kandhare *et al.* (2012) concluíram em um estudo que o tratamento com quercetina mostrou significativa proteção contra a neuropatia diabética induzida por

estreptozotocina, que pode ser causado pela redução da hiperglicemia e modulação do estresse oxidativo, citocinas pró-inflamatórias e danos no DNA.

Prasad *et al.* (2014) demonstraram efeito sinérgico da quercetina quando associada com ácido gálico, ácido p-anísico, ácido cinâmico frente a algumas bactérias Gram negativas.

Choi *et al.* (2012) sugerem que o consumo diário de alimentos ou produtos que contêm grande quantidade de quercetina pode ser benéfico para aumentar o efeito quimiopreventivo em doenças neurodegenerativas como Doença de Alzheimer, outros autores também sugerem que o flavonoide pode ser promissor no tratamento desta patologia (ANSARIA *et al.*, 2009; ISLAM *et al.*, 2013). Efeito neuroprotetor já havia sido descrito em estudos anteriores (TONGJAROENBUANGAM *et al.*, 2011; DAJAS, 2012) e estudos recentes (BECKMANN *et al.*, 2014).

A quercetina também apresentou efeito protetor contra a cito-genotoxicidade induzida por metrotexato na medula óssea de ratos, demonstrando que este flavonoide pode apresentar atividade desejável para superar as sérias reações adversas de supressão da medula óssea observada na quimioterapia além da formação de tumores secundários (SEKEROGLU, SEKEROGLU, 2012).

4.4.3.3 Identificação estrutural de BAU4

A análise foi realizada a partir dos espectros de ressonância magnética nuclear ^1H obtido a uma frequência de 200,13 MHz (FIGURA 16) e do espectro de RMN de ^{13}C na frequência de 50,32 MHz (FIGURA 17).

A TABELA 12 ilustra a comparação dos valores dos deslocamentos químicos de RMN de ^{13}C e ^1H para a substância BAU4 com aqueles encontrados na literatura para engeletina (HUANG *et al.*, 2011a).

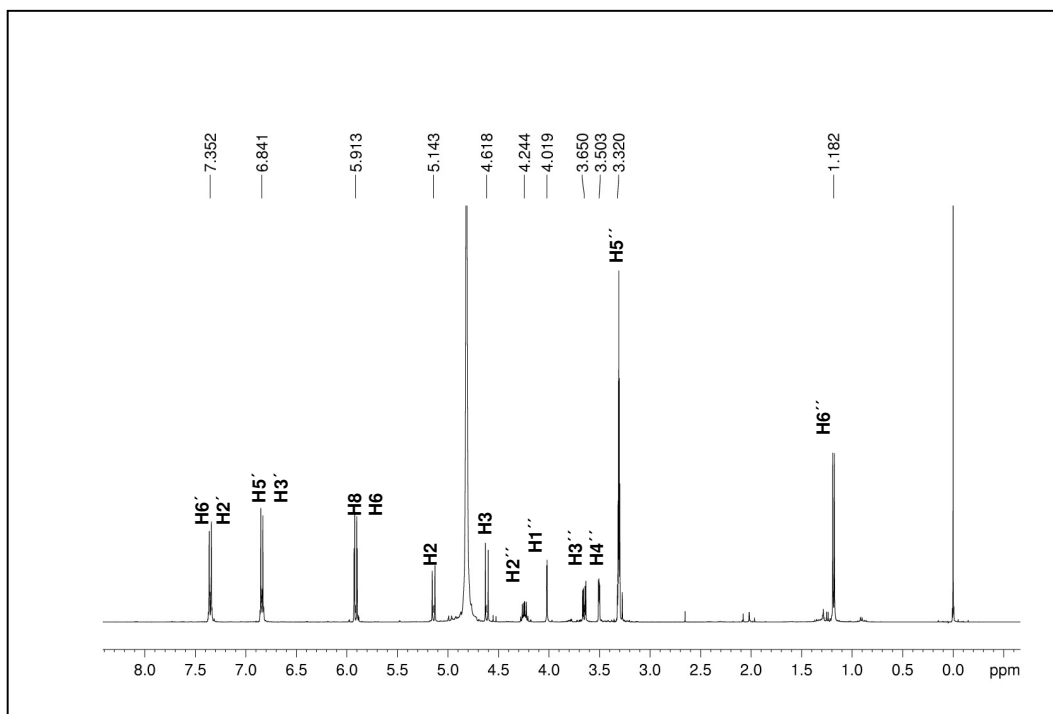


FIGURA 16 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU4

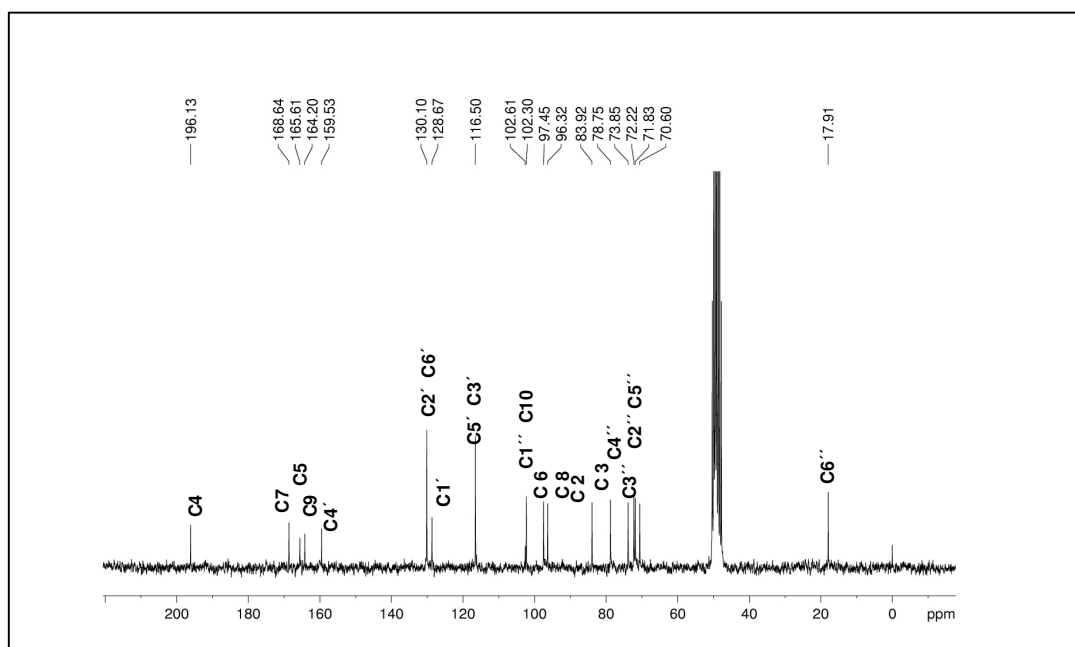


FIGURA 17 – ESPECTRO DE RMN de ^{13}C (50,32 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU4

A identificação do composto foi feita por comparação (TABELA 12) dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos com o composto BAU4 com aqueles descritos por HUANG *et al.* (2011a) para o flavonoide engeletina. A FIGURA 18 ilustra a estrutura química da engeletina.

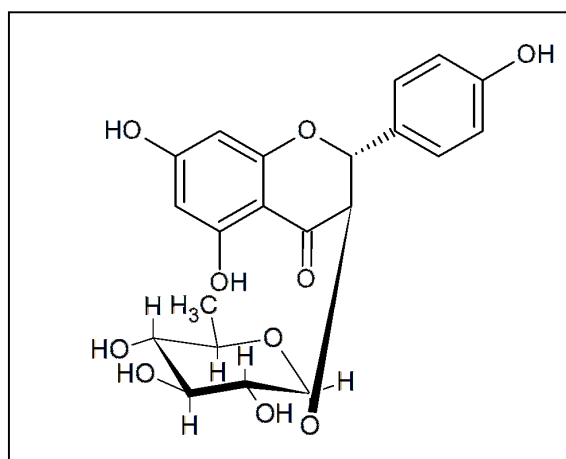


FIGURA 18 – ESTRUTURA QUÍMICA DA ENGELETINA

Os espectros de RMN obtidos mostram similaridade com o composto BAU2 descrito anteriormente. Observa-se que a diferença entre o espectro de BAU4 para o da substância BAU2 reside na substituição do anel B.

O padrão de substituição para o anel B da BAU4 corresponde a um anel dissubstituído em posição para, apresentando dois sinais em δ 7,35 e 6,85 ambos integrados para dois hidrogênios cada; com constantes de acoplamento $J=8,6$ Hz com magnitude de constante de hidrogênios orto em anéis aromáticos.

Estas informações quando comparadas com a literatura (HUANG *et al.*, 2011a) nos leva a propor a estrutura do flavonoide engeletina (*rel-2R,3S-5,7,4'*-triidroxi-3O- α -L-ramno piranosil flavanonol) para o composto BAU4. A engeletina (dihidrocanferol-3-ramnosídeo) apresenta coloração amarelada, fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$ e massa molar de 434,12 g/mol.

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ^{13}C E ^1H (200,13 MHz, 50,32 MHz, PPM, CD_3OD) DA SUBSTÂNCIA BAU4 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA ENGELETINA

Posição	RMN de ^{13}C Literatura *	RMN de ^{13}C BAU4	RMN de ^1H Literatura *	RMN de ^1H BAU4
2	83,83	83,9	5,13 (1H, d, $J=10,8$ Hz)	5,14 (1H, d, $J=10,8$ Hz)
3	78,56	78,7	4,62 (1H, d, $J=10,8$ Hz)	4,61 (1H, d, $J=10,8$ Hz)
4	196,05	196,1		
5	165,47	165,6		
6	97,39	97,4	5,92 (1H, d, $J=1,6$ Hz)	5,9 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
7	168,53	168,6		
8	96,25	96,3	5,89 (1H, d, $J=1,6$ Hz)	5,9 (1H, d, $J=2,1$ Hz)
9	164,1	164,2		
10	102,2	102,3		
1'	128,58	128,6		
2'	130,05	130,1	7,36 (1H, d, $J=8,4$ Hz)	7,35 (1H, d, $J=8,6$ Hz)
3'	116,41	116,5	6,85 (1H, d, $J=8,4$ Hz)	6,84 (1H, d, $J=8,6$ Hz)
4'	159,42	159,5		
5'	116,41	116,5	6,85 (1H, d, $J=8,4$ Hz)	6,84 (1H, d, $J=8,6$ Hz)
6'	130,05	130,1	7,36 (1H, d, $J=8,4$ Hz)	7,35 (1H, d, $J=8,6$ Hz)
1''	102,48	102,6	3,99 (1H, s)	4,01 (1H, d, $J=1,4$ Hz)
2''	71,74	71,8	4,30 (1H, m)	4,24 (1H, m)
3''	72,12	72,2	3,67 (1H, dd, $J=9,2;$ 2,8Hz)	3,65 (1H, dd, $J=9,6;$ 3,3 Hz)
4''	73,76	73,8	3,50 (1H, m)	3,50 (1H, dd, $J= 3,3;$ 1,6 Hz)
5''	70,50	70,6	3,34 (1H, m)	3,33 (1H, m)
6''	17,85	17,9	1,19 (3H, d, $J=6$ Hz)	1,18 (3H, d, $J=6,3$ Hz)

* HUANG *et al.* (2011a) CD_3OD (metanol deuterado). Valores são dados em ppm relativos ao sinal do TMS como padrão interno. Números em parêntese demonstram constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Sinais: s=simpleto, d=dubleto, dd=duplo dubleto, m=multiplero

Este é o primeiro relato do isolamento deste composto nas folhas de *B. unguolata* e assim como a astilbina, descrita anteriormente, a engeletina também é um diidroflavonol comumente encontrado na natureza. De acordo com a literatura, estes compostos são encontrados juntos nas plantas e compartilham das mesmas bioatividades (ZHANG *et al.*, 2013b).

A engeletina já foi detectada em plantas como a *Petiveria alliacea* (MONACHE, SUAREZ, 1992), *Andira anthelmia* (DA SILVA *et al.*, 2006; DA SILVA *et al.*, 2007), na casca da uva branca e no vinho branco (TROUSDALE, SINGLETON, 1983), na casca do caule de *Flindersia australis* (REISCH, HUSSAIN, MESTER, 1984), no bagaço da uva (LU, FOO; 1999) em tubérculos de *Smilax bockii* (GUO *et al.*, 2004), rizomas de *Smilax glabra* (CHEN *et al.*, 1999) e raízes (NGUYEN *et al.*, 2012), rizomas de *Smilax corbularia* (RUANGNOO *et al.*, 2012), rizomas de *Smilax china* (CHEN *et al.*, 2011b) e tubérculo (SHAO *et al.*, 2007), nas folhas de *Stelechocarpus cauliflorus* (WIRASATHIEN *et al.*, 2007), folhas e inflorescências de *Iryanthera sagotiana* (SILVA, YOSHIDA, KATO, 1997), folhas (HUANG *et al.*, 2011a) e cascas de *Engelhardia roxburghiana* (WU *et al.*, 2012a), folhas de *Iryanthera ulei* Warb (BERNAL, SUÁREZ, 2009), casca do caule de *Flindersia australis* (REISCH, HUSSAIN, MESTER, 1984), rizomas de *Smilacis chinae* (ZHANG *et al.*, 2012), folhas e inflorescências de *Iryanthera sagotiana* (SILVA, YOSHIDA, KATO, 1997), nas flores de *Pieris japonica* (LI, ZHONG, 2013) entre outras.

Engeletina demonstrou potente efeito sobre a liberação de prostaglandinas (PGE₂) e de acordo com o autor é um promissor composto anti-inflamatório (RUANGNOO *et al.*, 2012). Também demonstrou efeito inibitório sobre TNF- α , IL-1 β , IL-6 e cicloxigenase 1 e 2 (COX-1 e COX-2) em macrófagos de ratos LPS-estimuladas (HUANG *et al.*, 2011a). Porém, Su *et al.* (2002) relataram que a mesma não é capaz de inibir a COX-2. Atividade antiestrogênica foi observada com a engeletina em um determinado ensaio com base nas linhagem de células de câncer de mama humano sensível ao estrogênio MCF-7 e T47D. (WUNGSINTAWEEKUL *et al.*, 2011). A engeletina demonstrou potente atividade de inibição da aldose redutase, uma enzima que catalisa a transformação da glicose em sorbitol, envolvido nas complicações do diabetes (WIRASATHIEN *et al.*, 2007) e baixa atividade inibitória sobre atividade da xantina oxidase (CHEN *et al.*, 2011a), envolvida na formação do ácido úrico.

4.4.2.5 Identificação estrutural de BAU5

A análise e identificação do composto foi realizada a partir do espectro de ressonância magnética nuclear ^1H e dos espectros de 2D HMBC, HSQC e COSY obtidos a uma frequência de 500 MHz (FIGURA 19, 20 e 21). A partir dos resultados obtidos (TABELA 13) é possível sugerir que o composto BAU5 é o canferol-3- α -ramnopiranosídeo também conhecido como afzelina.

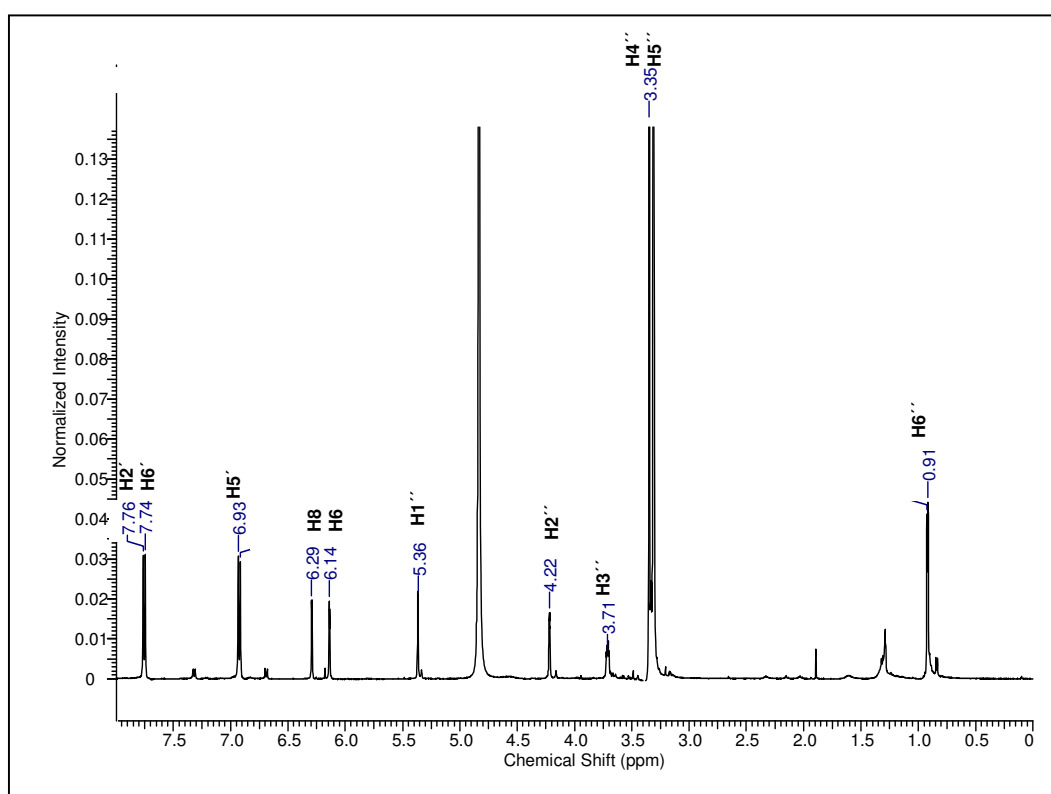


FIGURA 19– ESPECTRO DE RMN de ^1H (500 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU5

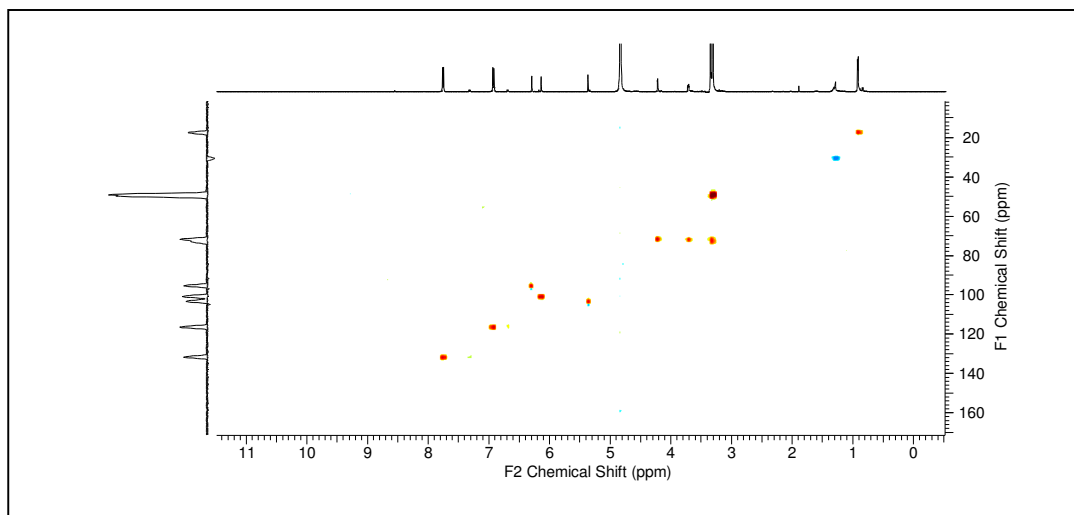


FIGURA 20 – MAPA DE CORRELAÇÃO HETERONUCLEAR (HSQC) UTILIZADA PARA O COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD₃OD)

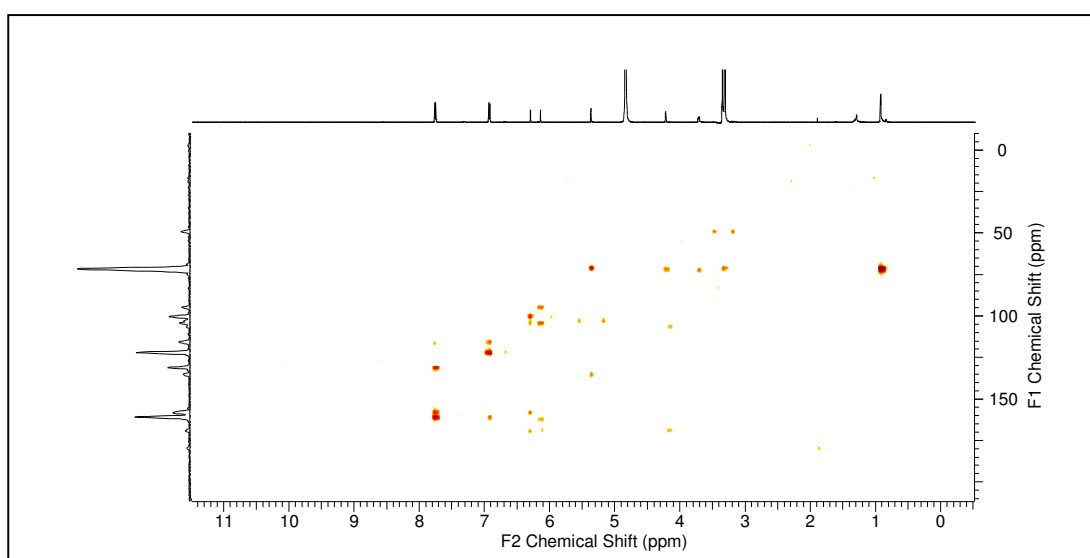


FIGURA 21 – MAPA DE CORRELAÇÃO HETERONUCLEAR DE MÚLTIPLAS LIGAÇÕES (HMBC) UTILIZADA PARA O COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD₃OD)

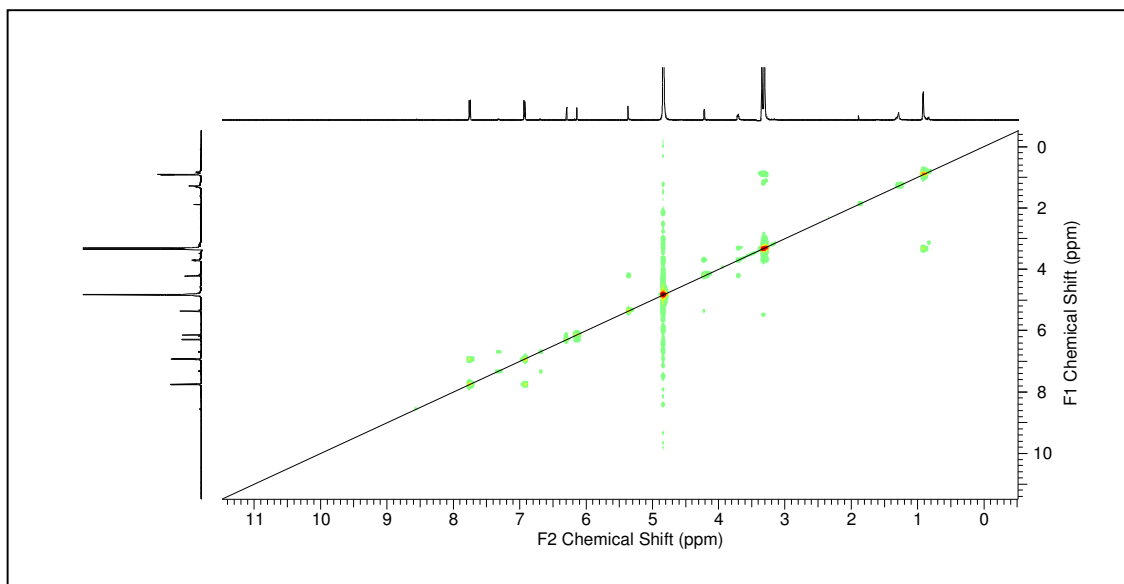


FIGURA 22 – MAPA DE CORRELAÇÃO HOMONUCLEAR COSY DO COMPOSTO BAU5 (500 MHz, CD₃OD)

A TABELA 13 ilustra os valores dos deslocamentos químicos de RMN de ¹³C e ¹H para a substância BAU5. Pode-se observar as constantes de acoplamento dos doubletos em δ 6,14 ($J=2,1$ Hz; H-6), δ 6,29 ($J=2,1$ Hz; H-8) indicam que estes dois hidrogênios estão acoplados em meta e ligados aos carbonos 6 e 8 da estrutura do flavonoide. Os sinais em δ 6,93 (d; $J= 8,8$ Hz; H-2', H-6'), δ 7,74 (d; $J= 8,8$ Hz; H-3', H-5') são característicos de anel para-substituído, e sugerem a presença de OH na posição 4'. Os sinais na região entre δ 3,35 e δ 4,22 possibilitam afirmar que trata-se de flavonoide glicosilado, pois esta região é característica de açúcares. O açúcar ligado foi identificado como ramnose pela presença do próton em 0,91 do grupo metila (d; $J=5,7$ Hz; H-6''), típico desta molécula (CARDOSO *et al.*, 2013). A configuração α -anomérica para a ramnose foi confirmada pela constante de acoplamento 1,5 (H-1'') do sinal em δ 5,36 (DU, LI, JERZ, 2005). Para confirmação da estrutura, foi obtido um espectro de correlação COSY (observando correlação entre núcleos ¹H-¹H a 2 ligações de distância e a avaliação dos resultados estão também disponíveis na TABELA 13.

TABELA 13 – DADOS DE RMN DE ^1H (500 MHz, CD_3OD) PARA BAU5

	^1H	Valores de ^{13}C a partir de HSQC e HMBC	COSY	HMBC ($^1\text{H} \rightarrow ^{13}\text{C}$)
2		158,8		
3		135,7		
4				
5		162,6		
6	6,14 (d,1H, J=2,1)	100,8	H8	C8,C10, C5
7		169,9		
8	6,29 (d,1H,J= 2,1)	95,3	H6	C6, C10, C7, C9
9		158,7		
10		104,8		
1'		122,6		
2'	7,74 (d,2H,J=8,8)	131,7	H3'	C5', C1', C4'
3'	6,93 (d,2H, J=8,8)	116,4	H2'	C2', C6', C2, C4'
4'		161,5		
5'	6,93 (d,2H, J=8,8)	116,4	H5'	C2', C1', C4'
6'	7,74 (d,2H,J=8,8)	131,7	H6'	C2', C3', C2, C4'
1''	5,36 (d, 1H, J=1,6)	103,3	H2''	C2'', C3
2''	4,22 (dd, 1H, J=3,3 e 1,7)	71,7	H1'', H3''	
3''	3,71 (m, 1H)	72,0	H2'', H4'', H6''	
4''	3,35 (m, 1H)	72,4	H3''	C3''
5''	3,35 (m, 1H)	72,4		
6''	0,91 (d, 3H, J=5,7)	17,5	H3''	C4''

Valores são dados em ppm relativos ao sinal do TMS como padrão interno. Números em parêntese demonstram constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Sinais: d=dubleteo, dd=duplo dubleteo, m=multiplero

Os valores de carbono foram obtidos pela análise dos espectros de correlação ^1H - ^{13}C HSQC (observando correlações ^1H - ^{13}C a 1 ligação de distância) e HMBC (observando correlações ^1H - ^{13}C a 3 ligações de distância). Os valores obtidos encontram-se descritos na TABELA 13. Além disso, o espectro HMBC indicou que a posição de ligação da L-ramnose é no C-3 de acordo com as correlações do hidrogênio H-1" com o carbono C-3, em 135,7 ppm.

O flavonoide Canferol-3-O- α -ramnopiranosídeo apresenta coloração amarelada, fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$ e massa molar de 432,28 g/mol. A FIGURA 23 ilustra a estrutura química da afzelina.

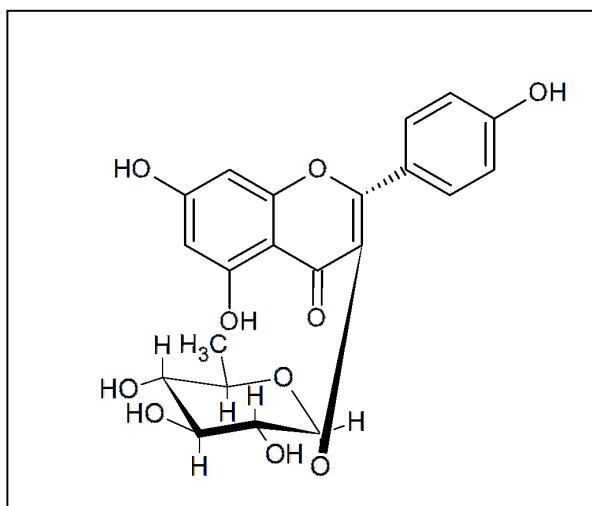


FIGURA 23 – ESTRUTURA QUÍMICA DA AFZELINA

Este é o primeiro relato do isolamento deste composto nas folhas de *B. unguolata*. Afzelina já foi detectada em várias espécies, como nas folhas de *Persea americana* (MIRANDA *et al.*, 1997), na *Koelreuteria paniculata* Laxm (LIN *et al.*, 2002), na casca do caule de *Juglans mandshurica* (MIN *et al.*, 2003), frondes de *Gleichenia quadripartita* (SOCOLSKY, ASAKAWA, BARDÓN, 2007), *Neolitsea sericea* var. *aurata* (LAM *et al.*; 2008), nas frutas de *Pterogyne nitens* (REGASINI *et al.*, 2008a), em frutos de *Thuja orientalis* (XU *et al.*, 2009), nas folhas de *Lindera aggregata* (XIAO *et al.*, 2011), *Riedeliella graciliflora* (MIRANDA *et al.*, 2012), folhas de *Copaifera langsdorffii*

(BRANCALION *et al.*, 2012; ALVES *et al.*, 2013), *Searsia chirindensis* L. (MADIKIZELA, ADEROGBA, VAN STADEN, 2013), flores de *Rhododendron mucronulatum* (MOK, LEE, 2013) entre várias outras descritas na literatura. Com relação ao gênero *Bauhinia* a afzelina foi encontrada nas folhas de *B. megalandra* (ESTRADA *et al.*, 2005; RODRÍGUEZ *et al.*, 2010), *B. microstachya* (MEYERE-SILVA *et al.*, 2001), *B. racemosa* (EL-HOSSAY *et al.*, 2000), *B. malabarica* (KAEWAMATAWONG *et al.*, 2008).

Rodríguez *et al.* (2010) identificou o Canferol-3-O- α -ramnopiranosídeo nas folhas de *B. megalandra* como o constituinte responsável pela inibição da absorção intestinal de glicose e conseqüentemente redução da glicemia, que é um importante fator em pacientes diabéticos. Outro estudo mostrou apresentar potente atividade inibitória da aldose redutase (MOK, LEE, 2013), que catalisa a redução de vários açúcares. Além disso, demonstrou apresentar atividade antimicrobiana (TATSIMO *et al.*, 2012) principalmente contra a *Pseudomonas aeruginosa* (LEE *et al.*, 2014), e antioxidante (TATSIMO *et al.*, 2012), ação virustática mas não virúscida (MIRANDA *et al.*, 1997) e atividade anti-leishmania (MUZITANO *et al.*, 2006).

Há *et al.* (2014) observaram que a afzelina é capaz de exibir atividade antiviral contra o vírus influenza A/NWS/33 (H1N1), além disso também demonstrou atividade inibitória da neuraminidase. Demonstrou proteção dos queratinócitos humanos contra os efeitos deletérios da radiação UV (ultra-violeta) por meio de suas propriedades biológicas (DNA-protetor, antioxidante, e anti-inflamatório), bem como pelo absorção do UV, sendo capaz de evitar o fotoenvelhecimento e o desenvolvimento de câncer de pele (SHIN *et al.*, 2013). Também foi possível inferir a este composto uma ação quimioprotetora, pois a afzelina inibiu a atividade da enzima quinona redutase 2 (QR2), que é expressa em abundância no câncer de próstata (YANG *et al.*, 2010), além de inibir a proliferação de células do câncer de mama (MCF-7) de um modo dose dependente e promover a apoptose (DIANTINI *et al.*, 2012).

Afzelina não apresentou atividade antimicrobiana frente a cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella* e *Bacillus thuringiensis* em ensaio que determinou a concentração inibitória mínima (CIM) (WEN *et al.*, 2014).

4.4.2.3 Identificação estrutural de BAU6

A análise foi realizada a partir do espectro de ressonância magnética nuclear ^1H obtido a uma frequência de 200,13 MHz (FIGURA 24) e do espectro de RMN de ^{13}C na frequência de 50,32 MHz (FIGURA 25).

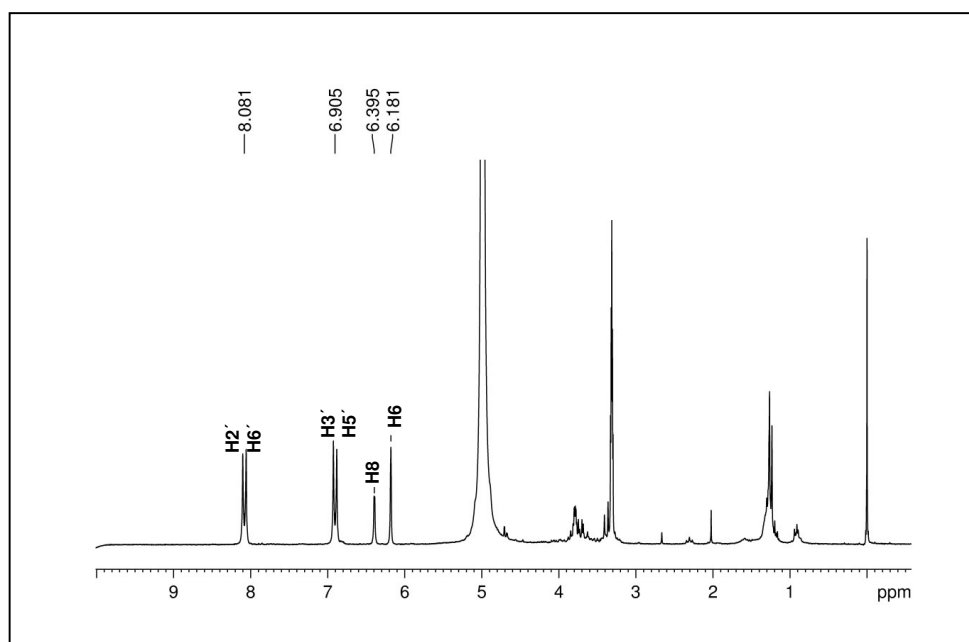


FIGURA 24 - ESPECTRO DE RMN DE ^1H (200,13 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU6

A amostra encontra-se em mistura e a identificação do composto majoritário foi feita por comparação dos dados de RMN de ^1H e ^{13}C obtidos com o composto BAU6 com aqueles descritos por Bachheti *et al.* (2011) para o flavonóide canferol, uma aglicona. A FIGURA 26 ilustra a estrutura química do canferol (3, 5, 7, 4'-tetraidroxiflavona).

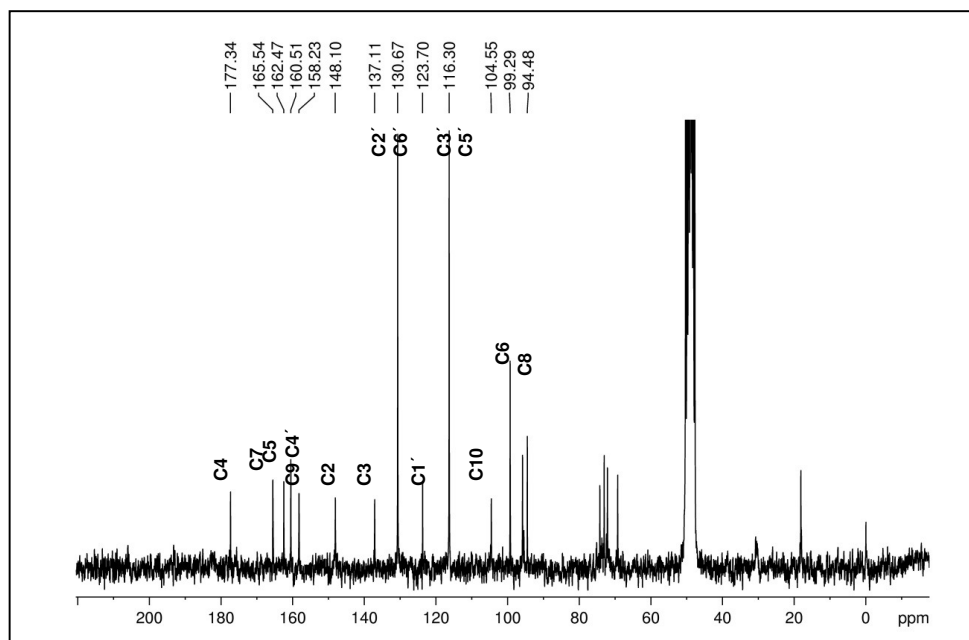


FIGURA 25 – ESPECTRO DE RMN de ^{13}C (50,32 MHz, CD_3OD) DO COMPOSTO BAU6

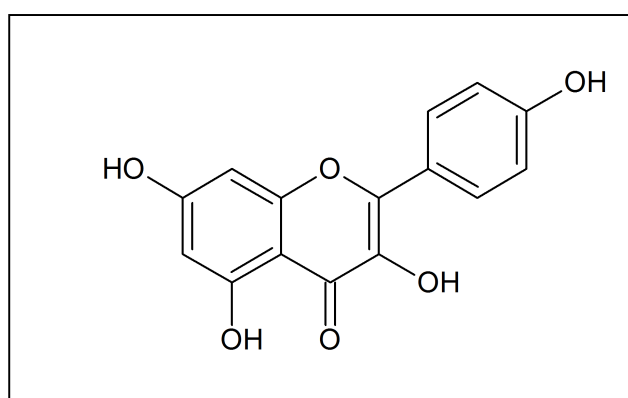


FIGURA 26 – ESTRUTURA QUÍMICA DO CANFEROL

Observa-se no espectro de ^1H -RMN (FIGURA 24) dois dubletos 6,18 (d; $J=1,5$; H-6) e 6,40 (d; $J=1,5$; H-8), indicando o acoplamento em meta. Os sinais em δ 8,08 (d; $J= 8,8$ Hz; H-2' e H-6'), δ 6,90 (d; $J= 8,8$; H-3' e H-5'), apresentam formato e constantes de acoplamento característicos de um anel para-substituído. Observa-se também no

espectro sinais na região de açúcares, porém a integração dos sinais indica que tais açúcares não se encontram ligados ao flavonóide canferol.

O espectro de ^{13}C -RMN (FIGURA 25) também mostrou a presença de seis carbonos oxigenados em δ 148,1; 137,1; 162,4; 165,6; 158,2 e 160,5 atribuídos a C-2, C-3, C-5, C-7, C-9 respectivamente. O sinal em δ 177,3 atribuído a C-4, permite confirmar, juntamente com os sinais anteriores, a presença de esqueleto flavonoídico.

Os dados obtidos dos espectros de ^1H -RMN e ^{13}C -RMN foram comparados com dados obtidos da literatura como ilustrado na TABELA 14.

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DOS ESPECTROS DE RMN DE ^{13}C e ^1H (50,3 MHz, 200,13 MHz, CD_3OD) DA SUBSTÂNCIA BAU6 COM OS ENCONTRADOS NA LITERATURA PARA CANFEROL

Posição	RMN de ^{13}C Literatura*	RMN de ^{13}C **BAU6	RMN de ^1H Literatura*	RMN de ^1H ** BAU6
2	148,3	148,1		
3	137,6	137,1		
4	177,0	177,3		
5	162,0	162,4		
6	98,5	99,2	6,13 (1H, d, $J=2,5$ Hz)	6,18 (1H, d, $J=1,5$ Hz)
7	164,3	165,5		
8	92,7	94,4	6,44 (1H, d, $J=2,5$ Hz)	6,39 (1H, d, $J=1,5$ Hz)
9	157,8	158,2		
10	105,4	104,5		
1´	123,6	123,7		
2´	130,7	130,6	8,09 (1H, d, $J=8,7$ Hz)	8,08 (1H, d, $J= 8,8$ Hz)
3´	116,3	116,3	6,81 (1H, d, $J=8,7$ Hz)	6,90 (1H, d, $J= 8,8$ Hz)
4´	160,6	160,5		
5´	116,3	116,3	6,81 (1H, d, $J=8,7$ Hz)	6,90 (1H, d, $J= 8,8$ Hz)
6´	130,7	130,6	8,09 (1H, d, $J=8,7$ Hz)	8,08 (1H, d, $J= 8,8$ Hz)

* BACHHETI *et al.* (2011) * CD_3OD (metanol deuterado). Valores são dados em ppm relativos ao sinal do TMS como padrão interno. Números em parêntese demonstram constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). Sinal: d=dubleteo.

Assim, as informações espectrais acima contribuem para a atribuição da estrutura do composto BAU6 ao canferol. Este é o primeiro relato do isolamento deste composto nas folhas de *B. unguolata*.

O canferol, unidade aglicônica, é um flavonoide que apresenta coloração amarelada, fórmula molecular $C_{15}H_{10}O_6$ e massa molar de 286,23 g/mol. Já foi detectado em outras espécies como *Aloe vera*, *Alternanthera tenella*, *Althaea rosea*, *Cassia angustifolia*, *Eucalyptus* spp, *Hypericum perforatum*, *Rosmarinus officinalis* (CALDERÓN-MONTAÑO *et al.*, 2011), além de plantas do gênero *Bauhinia* como a *B. championii* (XU *et al.*, 2012), folhas de *B. malabarica* (KAEWAMATAWONG *et al.*, 2008), *B. megalandra* (ESTRADA *et al.*, 2005), raiz de *B. racemosa* (EL-HOSSARY *et al.*, 2000), folhas de *B. vahlii* (SULTANA *et al.*, 1985), partes aéreas de *B. variegata* (RAHMAN; BEGUM; 1966; RAO *et al.*, 2008), *B. forficata* e *B. microstachya* (CALDERÓN-MONTAÑO *et al.*, 2011).

É também encontrado em plantas comestíveis como o *Allium cepa* (cebola), *Brassica juncea* (mostarda), *Brassica oleracea* (brócolis), *Camellia sinensis* (chá), *Cnidioscolus chayamansa* (espinafre), *Ipomoea batatas* (batata doce), *Lactuca sativa* (alface), *Solanum lycopersicum* (tomate), *Vitis vinifera* (uva) entre outras (CALDERÓN-MONTAÑO *et al.*, 2011).

Canferol apresenta elevado poder antioxidante observado através de várias técnicas (SINGH *et al.*, 2008; CHOE *et al.*, 2012; SIVASOTHY *et al.*, 2013), além das atividades antibacteriana (SIVASOTHY *et al.*, 2013), anticancerígena (HELTON *et al.*, 2008; NIRMALAM, RAMANATHAN, 2011), antiviral (SCHWARZ *et al.*, 2014) com potente atividade contra o vírus influenza B (YANG *et al.*, 2014), citoprotetora (SEIBERT *et al.*, 2011), antialérgica (OH *et al.*, 2013), anti-diabética (ZHANG, LIU, 2011), anti-inflamatória (RHO *et al.*, 2011; CHOE *et al.*, 2012), entre outras.

Estudo epidemiológicos descrevem benefícios do canferol obtido da dieta na redução do risco de doenças crônicas, especialmente o câncer (pulmão, gástrico, pancreático e ovariano), doenças cardiovasculares e diabetes tipo-2. Apesar disto, o número relativamente baixo de estudos e a possível presença de outros constituintes bioativos nos alimentos, fazem com que os dados sejam insuficientes para se afirmar a relação existente (CALDERÓN-MONTAÑO *et al.*, 2011).

4.5 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE FRENTE À *Artemia salina*

Os resultados obtidos referentes à avaliação da toxicidade sobre a *A. salina* são apresentados na TABELA 15.

TABELA 15 – MORTALIDADE DE *Artemia salina* E CL₅₀ UTILIZANDO O EXTRATO E FRAÇÕES DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO / MORTALIDADE			CL ₅₀ (µg.mL ⁻¹)	IC de 95% (µg.mL ⁻¹)
	10 µg.mL ⁻¹	100 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹		
EB	4	6	5	> 1000	-
FH	1	0	2	> 1000	-
FCL	0	6	2	> 1000	-
FAE	1	2	2	>1000	-
FR	0	2	3	> 1000	-
Metanol	0	0	0	> 1000	-
Sulfato de quinidina	16	10	18	50,12	35,80-70,16

Extrato Bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Clorofórmio (FCL), Fração Acetato de Etila (FAE), Fração Hidroalcoólica Residual (FR). IC= Intervalo de Confiança. CL₅₀= concentração letal

De acordo com Meyer *et al.* (1982), as amostras são consideradas ativas quando a CL₅₀ for menor que 1000 µg.mL⁻¹, portanto, de acordo com os valores obtidos nenhuma das amostras testadas apresentaram toxicidade sobre *A. salina*. Apesar de algumas mortes terem sido observadas com as amostras no experimento, o número total não foi estatisticamente significativo quando comparados ao sulfato de quinidina utilizado como controle positivo do teste e nem com o controle negativo (metanol / solvente utilizado para solubilização das amostras).

O ensaio de toxicidade frente aos náuplios de *A. salina*, que são microcrustáceos de água salgada empregados como alimento vivo para peixes, pode ser utilizado para a determinação preliminar de toxicidade de extratos vegetais por meio da estimativa da concentração letal (CL₅₀) capaz de matar 50% dos náuplios (CAVALCANTE *et al.*, 2000; PARRA *et al.*, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2008), tendo como principais vantagens a fácil obtenção, rapidez de realização do ensaio além do baixo custo (MEYER *et al.*, 1982) e simplicidade de execução (SIQUEIRA *et al.*, 2001; NASCIMENTO *et al.*, 2008).

Outras plantas do gênero *Bauhinia* foram analisadas e também não demonstraram efeitos tóxicos, como por exemplo, a *B. forficata* que apresentou CL_{50} 1780 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (FIGUEIRA *et al.*, 2012), a *B. purpurea* que apresentou $CL_{50} > 5000$ $\mu\text{g.mL}^{-1}$ (KRISHNARAJUA *et al.*, 2005) e o extrato bruto da *B. variegata* com $CL_{50} > 1000$ mg.mL^{-1} , porém este autor encontrou atividade quando testou alcaloides totais isolados desta planta (MARTÍNEZ *et al.*, 2011). Por outro lado, o extrato acetato de etila e o metanólico obtido das folhas e da *B. rufescens* foram tóxicos (0,059 e 0,389 mg.mL^{-1} respectivamente) (MUHAMMAD; SIRAT, 2013a).

4.6 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE HEMOLÍTICA

Para avaliação da atividade hemolítica proposta pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, foram testados o EB e frações obtidas a partir das folhas da *B. unguolata* L., sendo que não foi observada formação de hemólise total para nenhuma amostra em nenhuma diluição. Em todos os tubos ocorreu a formação de depósitos de eritrócitos, demonstrando que as amostras não foram capazes de promover hemólise total *in vitro*.

Resultado semelhante foi observado com a avaliação da atividade hemolítica em placas de ágar sangue ou teste de difusão em discos, em que também não foi observado a ocorrência de halos de hemólise ao redor do disco de papel, característico deste método, para nenhuma amostra analisada.

A avaliação de atividade hemolítica é considerada um indicador de toxicidade geral e bioatividade, sendo importante na investigação da ação de extratos de plantas sobre o sangue humano. Os testes *in vitro* para determinar a ação hemolítica têm sido utilizados como um dos métodos de triagem para os diferentes agentes tóxicos (KUBLIK *et al.*, 1996), incluindo a avaliação de plantas (GANDHI; CHERIAN, 2000).

Os resultados obtidos confirmaram a reação negativa de Lieberman Bouchardt da marcha fitoquímica, sugerindo a ausência de saponina e podem indicar não toxicidade das amostras nestes modelos, no entanto outros estudos de toxicidade *in vitro* e *in vivo* devem ser realizados.

4.7 DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO TOTAL DE COMPOSTOS FENÓLICOS - TESTE DE FOLIN-CIOCALTEU

Analisando os resultados na TABELA 16, é possível verificar que entre as amostras testadas a FAE é a que apresenta maior teor de fenóis na sua constituição.

TABELA 16 - QUANTIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS (EQUIVALENTE EM ÁCIDO GÁLICO - EAG) NO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDOS DE *Bauhinia unguolata* PELO TESTE DE FOLIN-CIOCALTEU

AMOSTRA	CONCENTRAÇÕES DE FENÓIS TOTAIS (mg EAG.g ⁻¹ da amostra)
EB	377,95 ± 0,02
FH	104,16 ± 0,02
FCL	419,92 ± 0,01
FAE	658,97 ± 0,02
FR	289,3 ± 0,02

Extrato bruto (EB), fração hexânica (FH), fração clorofórmio (FCL), Fração acetato de etila (FAE), fração hidroalcoólica residual (FR). Média (mg) ± desvio padrão. n=3.

Outras amostras também demonstraram apresentar altas quantidades de compostos fenólicos pois de acordo com CHEW *et al.* (2011) a quantidade de fenóis totais das plantas podem ser classificadas em quatro classes: alta (> 50 mg.EAG.g⁻¹), média-alta (30-50 mg. EAG.g⁻¹), médio baixa (10-30 mg. EAG.g⁻¹) e baixa (<10 mg. EAG.g⁻¹).

Outras plantas do gênero *Bauhinia* tiveram o conteúdo de fenólicos totais estimados pelo mesmo método. O extrato etanólico de *B. rufescens* apresentou 68,40 ± 0,02 mg/g também expressos em equivalente de ácido gálico (ALIYU *et al.*, 2009). Já o extrato metanólico de *B. variegata* apresentou elevados teores de fenóis totais (440,0 ± 3,02 mg. EAG.g⁻¹) assim como as frações hexano (200 ± 2,67), clorofórmio (372,5 ± 5,97), butanol (492,5 ± 3,86), acetato de etila (585,5 ± 3,45) e residual (429 ± 4,77) em que os resultados também foram expressivos, sendo possível observar que a fração acetato de etila nesta espécie também apresenta o maior teor entre as frações (SHARMA *et al.*, 2011). Flores e folhas de *B. kockiana* também apresentaram elevados teores de fenóis totais (8280 ± 498 mg EAG/100g e 4220 ± 104 mg EAG/100g, respectivamente), porém as flores e folhas de *B. purpúrea* apresentaram baixo e médios teores destes metabólitos (<1000 mg EAG /100 g e 1310 ± 124 mg EAG /100 g respectivamente), de acordo com o autor (CHEW *et al.*, 2011).

Compostos fenólicos incluem fenóis simples, ácidos fenólicos (derivados do ácido benzóico e cinâmico), cumarinas, flavonoides, estilbenos, taninos hidrolisáveis e condensados, lignanas e ligninas. Estes compostos estão entre os metabólitos secundários que mais amplamente ocorrem no reino vegetal, atuando principalmente como fitoalexinas, atrativos para polinizadores, contribuintes para a pigmentação da planta, antioxidantes e agentes de proteção contra os raios ultravioletas, entre outros (BLAINSKI *et al.*, 2013).

Os resultados observados neste experimento estão de acordo com o encontrado na prospecção fitoquímica. Com a FAE observou-se o maior valor dentre as amostras analisadas para o conteúdo de fenóis totais, sendo que a prospecção fitoquímica demonstrou a presença de compostos fenólicos principalmente flavonoides nesta fração que foi confirmado pelo isolamento e identificação dos flavonoides descritos. Os compostos fenólicos podem contribuir diretamente para a ação antioxidante.

O conteúdo de fenólicos totais do extrato e frações da *B. unguolata*, em termos de equivalente de ácido gálico, é indicativo do alto potencial antioxidante pelo fato de que os constituintes fenólicos podem reagir com espécies reativas de oxigênio (ODABASOGLU *et al.*, 2004).

4.8 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.8.1 Redução do Complexo Fosfomolibdênio

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante pelo método de complexação do fosfomolibdênio estão apresentados na TABELA 17. A atividade antioxidante de cada amostra foi calculada em relação à rutina com atividade definida como 100% e em relação ao ácido ascórbico também com 100% de atividade.

TABELA 17 - RESULTADOS DO ENSAIO DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L. PELA REDUÇÃO DO COMPLEXO FOSFOMOLIBDÊNIO

Amostra	Atividade Antioxidante em relação à Rutina - AA (%) \pm DP	Atividade Antioxidante em relação ao Ácido Ascórbico - AA (%) \pm DP
Rutina	100 ^a	-----
Ácido ascórbico	-----	100 ^c
EB	72,09 \pm 2,71 ^b	22,42 \pm 2,78 ^d
FH	86,20 \pm 1,61 ^{ab}	26,81 \pm 1,30 ^{de}
FCL	89,92 \pm 1,05 ^{ab}	27,96 \pm 2,19 ^{de}
FAE	100,00 \pm 0,51 ^a	31,10 \pm 1,27 ^e
FR	79,53 \pm 1,53 ^{ab}	24,73 \pm 2,28 ^d

Extrato Bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Clorofórmio (FC), Fração Acetato de Etila (FAE), Fração Hidroalcoólica Residual (FR). AA=atividade antioxidante. DP= desvio padrão. *Resultados seguidos pela (s) mesma (s) letra (s) na mesma coluna não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

De acordo com os resultados, todas as amostras testadas, EB, FH, FCL, FAE e FR demonstraram atividade antioxidante por redução do complexo fosfomolibdênio, ao adquirir a coloração verde característica confirmados pelas leituras no espectrofotômetro.

Destaca-se o resultado obtido com a FAE que foi igual à atividade antioxidante do flavonoide rutina utilizado como padrão, que apresenta reconhecida ação antioxidante (ZUANAZZI; MONTANHA, 2003). Este resultado era esperado devido à grande concentração de compostos fenólicos observado no doseamento de fenóis totais pelo Folin-Ciocalteu (TABELA 16), sendo o poder antioxidante relacionado ao conteúdo destes compostos. O EB, FH, FCL, FR também apresentaram atividade antioxidante quando comparados a rutina, porém quando o padrão utilizado foi o ácido ascórbico, a maior atividade antioxidante foi encontrada com a FAE que apresentou 31,11% a da atividade deste controle.

Este método possui a vantagem de avaliar a capacidade antioxidante de componentes lipofílicos e hidrofílicos presentes na amostra, ou seja, mede a capacidade antioxidante total (PRIETO *et al.*, 1999).

Na prática, os resultados sugerem que as amostras, por reduzirem o molibdênio VI a molibdênio V podem inibir a ação da xantina oxidase, uma vez que o molibdênio é utilizado como cofator desta enzima. A xantina oxidase (XO) é a enzima responsável

pela transformação tanto da hipoxantina em xantina, quanto desta em ácido úrico que, em ambiente fisiológico, está na forma de urato. A hipoxantina e a xantina são muito mais solúveis que o ácido úrico, e este último pode se depositar como urato de sódio, um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento da doença conhecida como gota (TSUTOMU *et al.*, 1991). Durante este processo ocorre a formação de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) que, apesar de não ser uma espécie radical, está parcialmente reduzida podendo liberar elétrons em processos oxidativos com promoção da apoptose, e também estar associado a doenças neuro degenerativas como Alzheimer e Parkinson (SMITH *et al.*, 1997; EU *et al.*, 2000; GIASSON *et al.*, 2002). Van Hoorn *et al.* (2002) testaram uma série de flavonoides de diferentes classes, e verificaram a inibição sobre a xantina oxidase. Diante de todos os aspectos, verifica-se que compostos presentes no extrato e frações podem ser consideradas alvos potenciais e interessantes para inativação da xantina oxidase e desta forma utilizados no tratamento de algumas patologias.

Neste ensaio, é possível observar que estatisticamente, não existe diferença entre a FAE e o padrão rotina, porém, todas as amostras analisadas apresentaram potencial antioxidante inferior ao padrão ácido ascórbico.

4.8.2 Redução do radical DPPH

As concentrações dos controles e das amostras que são capazes de reduzir 50% da Cl_{50} do DPPH[•] são apresentadas na TABELA 18.

TABELA 18 - RESULTADOS DE CI_{50} PARA A REDUÇÃO DO DPPH[•] DO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDAS DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

AMOSTRA	CI_{50} (μ g) \pm DP
Vitamina C	4,22 \pm 0,04 ^a
Rutina	6,35 \pm 0,14 ^{ad}
EB	20,84 \pm 0,73 ^b
FH	124,74 \pm 2,15 ^c
FCL	18,20 \pm 0,26 ^b
FAE	7,68 \pm 0,09 ^d
FR	19,30 \pm 1,16 ^b

Extrato bruto (EB), fração hexânica (FH), fração clorofórmio (FC), Fração acetato de etila (FAE), fração hidroalcoólica residual (FR). CI_{50} (μ g) \pm DP= concentração inibitória \pm desvio padrão. *Resultados seguidos pela (s) mesma (s) letra (s) não difere estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Levando em consideração a análise estatística dos dados verificou-se que a FAE tem atividade antioxidante igual ao padrão rutina, pois não há diferença estatística significativa entre os resultados obtidos. A FAE, dentre as amostras testadas, foi a que apresentou menor valor de CI_{50} (7,68 \pm 0,09) que difere estatisticamente das demais frações, e pela análise ela pode ser considerada, entre elas, a mais ativa pois é necessário uma menor quantidade de amostra para reduzir a concentração inicial do DPPH[•] pela metade.

As outras amostras também apresentaram atividade antioxidante, porém foi necessário uma maior quantidade para obter redução de 50% na concentração do radical DPPH. Para a fração hexano foi obtida a concentração mais elevada (124,74 \pm 2,15 μ g.mL⁻¹), indicando menor atividade antioxidante desta amostra, quando avaliada a capacidade de redução do DPPH[•]. Este resultado indica que esta fração é menos ativa do que os padrões analisados e do que as demais amostras, pois é preciso uma quantidade maior para reduzir 50% da concentração inicial do DPPH[•] o que corrobora com o menor teor de compostos fenólicos totais obtidos com o reagente de Folin-Ciocalteu, quando comparados com as outras amostras. Desta forma a reduzida atividade antioxidante observada está de acordo com baixos níveis de fenólicos totais, que podem englobar flavonoides com atividade antioxidante. As demais frações e o EB apresentaram valores de CI_{50} superiores aos padrões, indicado que são menos ativas do que estes.

Este método avalia somente o poder redutor de uma substância, pois é baseado na transferência de elétrons de um composto com atividade antioxidante (ao

doar o elétron se oxida) para um radical livre, no caso o DPPH. Este radical livre que é instável, simula as espécies reativas de oxigênio (ERO's), e ao se reduzir perde sua coloração púrpura tornando-se amarelo pálido, mudança que é observada visualmente (MOLYNEUX, 2004), porém, a intensidade desta reação é analisada por espectrofotometria.

A partir dos resultados obtidos é possível sugerir que as amostras obtidas das folhas de *B. unguolata* possuem atividade antioxidante atuando na captação ou sequestro de radicais livres, com destaque para a FAE que assim como observado no teste do fosfomolibdênio, apresentou a maior porcentagem de sequestro de radicais livres, ou seja, maior atividade antioxidante entre as amostras.

Estudos realizados com outras plantas do gênero como *B. galpinii* (ADEROGBA *et al.*, 2007), *B. variegata* (NASCIMENTO *et al.*, 2011), *B. purpúrea* (SHAJISELVIN; SOMASUNDARAM; MUTHU, 2011; SAHU; KAR; ROUTRAY, 2013), *B. rufescens* (ALIYU *et al.*, 2009), *B. racemosa* (KUMAR *et al.*, 2005) entre outras também demonstraram ser capazes de sequestrar radicais livres.

4.8.3 Método das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico TBARS

Os resultados obtidos no ensaio com as amostras das folhas de *B. unguolata* L. são ilustrados na TABELA 19, expressos em % de redução da peroxidação lipídica (RP%).

TABELA 19 - REDUÇÃO DA PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA PROMOVIDA PELO EXTRATO BRUTO E FRAÇÕES OBTIDOS DAS FOLHAS DE *Bauhinia unguolata* L.

AMOSTRA	Redução da Peroxidação (RP%) (Média ± DP)
BHT	48,09 ± 2,62 ^a
EB	21,87 ± 1,63 ^b
FH	36,78 ± 1,45 ^c
FCL	18,79 ± 2,22 ^b
FAE	42,18 ± 1,65 ^{ac}
FR	25,68 ± 0,56 ^b

Butil-hidroxi-tolueno (BHT), Extrato bruto (EB), fração hexânica (FH), fração clorofórmio (FC), Fração acetato de etila (FAE), fração hidroalcoólica residual (FR). *Resultados seguidos pela (s) mesma (s) letra (s) não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si, pelo teste de Tukey.

Destaca-se o resultado observado com a FAE (42,18 % \pm 1,65) que é igual estatisticamente ao padrão BHT (48,09% \pm 9,62). As outras amostras também promoveram redução da peroxidação lipídica, porém em porcentagem menor do que o padrão.

Pandey *et al.* (2012) demonstraram que os extratos metanólicos de *B. variegata*, obtidos das folhas, cascas e flores apresentaram pelo mesmo método boa atividade antioxidante, podendo a planta, de acordo com o autor, ser uma fonte potencial de antioxidante natural. É possível desta forma sugerir que as amostras, em especial a FAE, também podem apresentar atividade antioxidante inibindo a peroxidação lipídica.

4.9 ATIVIDADE ALELOPÁTICA

4.9.1 Bioensaios de germinação e crescimento

A análise dos efeitos alelopáticos da *Bauhinia unguolata* L. indicou que houve interferência (estatisticamente significativa) no índice de velocidade de germinação (IVG) das sementes de *Lactuca sativa* (alface) quando estas estiveram em contato com as soluções contendo o EB e FH na concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, como demonstrados na TABELA 20, em relação ao controle. A inibição observada foi de 27,86% e 27,19%, para o EB e FH respectivamente. A FIGURA 27 ilustra a inibição observada. O IVG é usado para avaliar o vigor das sementes (MAGUIRE, 1962), pois seu enfraquecimento causa perda progressiva na capacidade produtiva, com a redução na uniformidade da germinação (PIÑA-RODRIGUEZ *et al.*, 2004).

Foi observado que as soluções do extrato e frações não influenciaram a germinação e IVG de forma significativa no período analisado, quando a espécie utilizada foi *Allium cepa* (cebola), conforme resultados descritos na TABELA 20.

TABELA 20- ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO (IVG) E PORCENTAGEM DE GERMINAÇÃO (%G) DAS SEMENTES DE *L. sativa* (ALFACE) E *A. cepa* (CEBOLA) FRENTE AO EXTRATO E FRAÇÕES DE *Bauhinia unguolata*

Índice de velocidade de germinação (IVG)						
Tratamento	Alface			Cebola		
	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹
Amostra						
EB	11,84±0,81 ^a	11,95±0,55 ^a	10,69±1,22^b	6,71±0,30 ^a	6,59±0,59 ^a	6,64±0,29 ^a
FH	12,71±0,43 ^a	12,82±1,0 ^a	10,79±1,77^b	6,75±0,57 ^a	7,16±1,19 ^a	5,96±0,74 ^a
FCI	12,66±1,18 ^a	11,70±0,96 ^a	11,93±1,68 ^a	6,56±0,25 ^a	7,34±0,39 ^a	6,37±0,74 ^a
FAE	11,48±0,82 ^a	13,02±0,77 ^a	13,75±1,49 ^a	6,14±0,33 ^a	6,13±0,97 ^a	5,68±0,13 ^a
FR	12,69±1,38 ^a	12,82±1,94 ^a	13,39±0,47 ^a	6,53±0,65 ^a	6,22±0,3 ^a	6,16±0,61 ^a
Controle	14,82±1,66 ^a	14,82±1,66 ^a	14,82±1,66 ^a	6,39±0,27 ^a	6,39±0,27 ^a	6,39±0,27 ^a
Porcentagem de germinação (% G)						
Tratamento	Alface			Cebola		
	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹
Amostra						
EB	75,0±1,58 ^a	80,5±0,41 ^a	73,0±2,22 ^a	88,0±1,89 ^a	92,0±1,63 ^a	87,0±0,21 ^a
FH	83,0±0,22 ^a	80,0±1,53 ^a	71,5±1,39 ^a	90,0±2,32 ^a	86,0±0,41 ^a	83,0±1,22 ^a
FCI	80,0±0,66 ^a	75,5±1,12 ^a	72,0±0,83 ^a	87,5±0,26 ^a	91,0±1,22 ^a	83,5±2,51 ^a
FAE	74,0±1,53 ^a	78,0±0,32 ^a	72,0±0,83 ^a	87,0±1,83 ^a	84,5±1,37 ^a	85,0±1,83 ^a
FR	79,5±1,38 ^a	74,0±0,31 ^a	79,0±1,76 ^a	92,0±2,11 ^a	88,0±1,63 ^a	85,55±1,74 ^a
Controle	74,0±0,12 ^a	74,0±0,12 ^a	74,0±0,12 ^a	86,5±1,41 ^a	86,5±1,41 ^a	86,5±1,41 ^a

IVG=Índice de velocidade de germinação. %G= porcentagem de germinação. Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Média ± Desvio Padrão. Médias seguidas com a mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

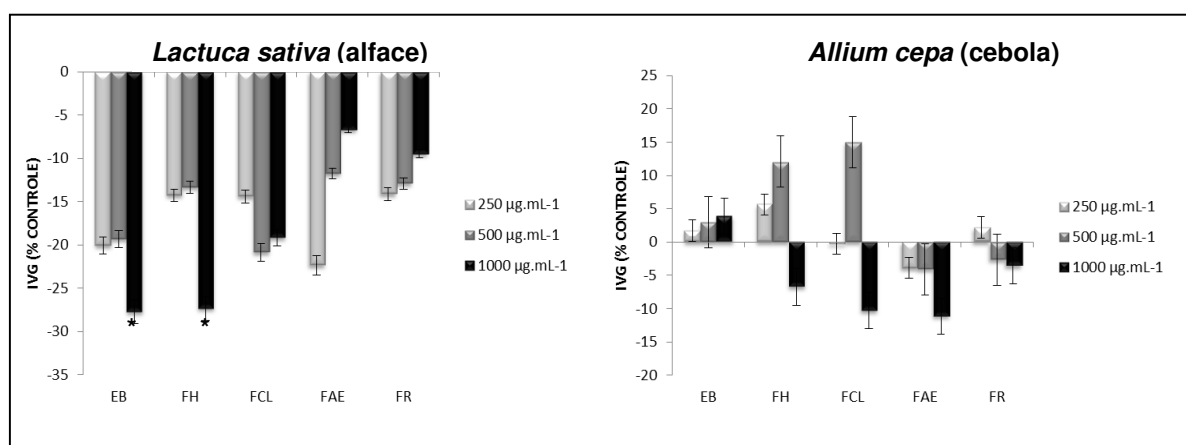


FIGURA 27 - ÍNDICE DE VELOCIDADE DE GERMINAÇÃO DE *L. sativa* (ALFACE) E *Allium cepa* (CEBOLA) SUBMETIDA A AMOSTRAS DE *B. unguolata* AO ENSAIO ALELOPÁTICO. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE. * A MÉDIA DO TRATAMENTO DIFERE SIGNIFICATIVAMENTE ($p < 0,05$) EM COMPARAÇÃO COM A MÉDIA DO CONTROLE PELO TESTE TUKEY

Com relação a porcentagem de germinação também não foi observado nenhuma inibição ou estímulo que se mostraram estatisticamente significativos como pode ser observado na TABELA 20. O fato das concentrações não afetarem a porcentagem de germinação pode ser explicado por Ferreira e Borghetti (2004), os quais relatam que o efeito alelopático não se dá, frequentemente, sobre a porcentagem de germinação final, e que pode estar relacionada a outro parâmetro, como por exemplo, o comprimento médio de raiz primária. Ferreira e Aquila (2000) também evidenciaram o fato da germinação ser menos sensível aos metabólitos secundários do que o crescimento das plântulas, pois este parâmetro é influenciado por estas substâncias que podem levar ao aparecimento de plântulas anormais, tendo a necrose como um sintoma comum.

Quando foi verificada a atividade alelopática da *B. forficata* sobre a germinação de sementes de tomate, Manoel *et al.* (2009), observaram que não houveram diferenças entre os tratamentos e o controle, ou entre os tratamentos. Extrato obtido das folhas de *B. guianensis* inibiu a germinação de sementes de *Mimosa pudica* em 80,3% e com a *B. macrostachya* a inibição foi de 53,7%, e o extrato obtido das raízes inibiu em 54 e 58% respectivamente, demonstrando desta forma que espécies pertencentes ao gênero, podem apresentar potencial atividade alelopática (MOURÃO JÚNIOR, 2010).

Na análise do crescimento foram calculadas as médias de crescimento da radícula e do hipocótilo/ coleótilo de plântulas de *L. sativa* e radícula e de *A. cepa*, submetidas ao extrato e frações das folhas de *B. unguolata*. De acordo com os resultados obtidos (TABELA 21), é observado que todas as concentrações do EB e a concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ da FR inibiram o crescimento da raiz primária de *L. sativa*. Semelhante ao observado para *L. sativa*, uma redução na raiz primária de *A. cepa* foi observada no EB e frações.

Na análise dos resultados relacionados com o crescimento da radícula, quando a alface foi utilizada, verificou-se que houve interferência, quando em contato com o FR na concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e EB em todas as concentrações testadas, quando comparadas ao controle. Algumas diferenças entre as amostras foram encontradas,

como mostrado na TABELA 21. Por outro lado, nenhuma diferença foi observada no crescimento do hipocótilo, quando comparado com o controle e os outros tratamentos.

TABELA 21 – AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DE SEMENTES DE *L. sativa* (alface) e *A. cepa* (cebola) SUBMETIDAS AOS EXTRATOS E FRAÇÕES DAS FOLHAS E CAULES DA *Bauhinia unguolata* E MASSA SECA

Crescimento						
Alface – <i>Lactuca sativa</i> L.						
Tratamento	Radícula (mm)			Hipocótilo (mm)		
	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹
Amostra						
EB	5,88±2,10^{bcd}	5,90±0,67^{abc}	3,55±1,55^a	4,05±1,28 ^a	4,88±1,24 ^a	4,48±0,89 ^a
FH	8,98±0,48 ^{efg}	7,33±0,9 ^{cdef}	7,48±1,95 ^{cdefg}	4,45±0,85 ^a	4,00±0,87 ^a	4,70±0,62 ^a
FCL	7,53±0,90 ^{cdefg}	9,30±0,68 ^{efg}	8,50±0,45 ^{cdefg}	4,53±1,03 ^a	4,38±0,99 ^a	4,33±1,05 ^a
FAE	9,85±1,76 ^{fg}	10,0±1,30 ^g	8,45±0,49 ^{cdefg}	4,75±1,03 ^a	5,10±1,41 ^a	5,00±1,28 ^a
FR	7,28±0,98 ^{cde}	8,03±1,89 ^{cdefg}	4,50±1,69^{ab}	5,05±1,24 ^a	4,83±1,80 ^a	5,03±1,42 ^a
Controle	8,88±2,57 ^{efg}	8,88±2,57 ^{efg}	8,88±2,57 ^{efg}	4,80±1,30 ^a	4,80±1,30 ^a	4,80±1,30 ^a
Cebola – <i>Allium cepa</i> L.						
Tratamento	Radícula (mm)			Coleótilo (mm)		
	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹
Amostra						
EB	12,28±1,36 ^{bc}	10,50±1,89 ^{abc}	5,98±2,31^a	17,30±1,44 ^a	17,0±1,21 ^a	13,13±2,94 ^a
FH	9,63±0,98 ^{abc}	7,40±1,90^{ab}	8,08±2,20^{ab}	15,77±2,77 ^a	13,98±1,56 ^a	12,38±1,09 ^a
FCL	8,13±2,20^{ab}	8,95±1,52^{ab}	9,13±1,85^{ab}	14,33±1,65 ^a	17,18±0,58 ^a	16,93±0,48 ^a
FAE	8,78±2,14^{ab}	8,08±1,66^{ab}	8,23±1,87^{ab}	14,90±1,59 ^a	16,6±1,07 ^a	12,53±1,21 ^a
FR	7,85±1,98^{ab}	9,50±1,78 ^{abc}	9,70±1,20 ^{abc}	14,85±0,43 ^a	18,73±1,55^b	17,10±0,37 ^a
Controle	14,35±1,90 ^c	14,35±1,90 ^c	14,35±1,90 ^c	12,58±1,35 ^a	12,58±1,35 ^a	12,58±1,35 ^a
Massa Seca						
Tratamento	Alface– <i>Lactuca sativa</i> L.			Cebola – <i>Allium cepa</i> L.		
	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹	250 µg.mL ⁻¹	500 µg.mL ⁻¹	1000 µg.mL ⁻¹
Amostra						
EB	0,69±0,09 ^a	0,72±0,07 ^a	0,69±0,03 ^a	2,72±0,14 ^a	2,94±0,09 ^a	2,97±1,26 ^a
FH	0,72±0,05 ^a	0,68±0,03 ^a	0,74±0,07 ^a	2,98±0,14 ^a	2,91±0,19 ^a	2,93±0,21 ^a
FCL	0,68±0,05 ^a	0,63±0,07 ^a	0,65±0,07 ^a	2,79±0,77 ^a	2,87±0,24 ^a	2,79±0,15 ^a
FAE	0,62±0,06 ^a	0,63±0,12 ^a	0,64±0,07 ^a	2,76±0,21 ^a	2,99±0,14 ^a	2,90±0,15 ^a
FR	0,63±0,05 ^a	0,62±0,07 ^a	0,70±0,06 ^a	2,94±0,13 ^a	2,88±0,11 ^a	3,15±0,52 ^a
Controle	0,71 ±0,07 ^a	0,71 ±0,07 ^a	0,71 ±0,07 ^a	2,92±0,16 ^a	2,92±0,16 ^a	2,92±0,16 ^a

Média ± Desvio Padrão. Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Médias seguidas com a mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey (p < 0,05).

Quando a cebola foi a espécie alvo, a inibição do crescimento radicular foi observado com EB 1000 µg.mL⁻¹, FH 500 e 1000 µg.mL⁻¹, FCL 1000 µg.mL⁻¹, FAE em todas as concentrações testadas e FR na concentração de 250 µg.mL⁻¹. Os efeitos mais evidentes foram observados em tratamento com o EB (1000 µg.mL⁻¹) e FH (500 µg.mL⁻¹) que promovem 58,33% e 48,43% de inibição do crescimento da radícula. No

que diz respeito ao crescimento do coleóptilo de cebola, alteração ocorreu apenas com FR 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ que promoveu estímulo do crescimento em 48,89% em comparação com o controle. O efeito geralmente observado no crescimento inicial é a redução do eixo hipocótilo-radícula da planta alvo, quando em contato com a amostra (AQUILA, 1999; RODRIGUES, 2002), e este efeito pode ser mais pronunciado no desenvolvimento da radícula tendo em vista que ocorre um maior contato desta com o papel de filtro embebido com a amostra (CHUNG *et al.*, 2001).

Este fato foi demonstrado por Mourão Júnior *et al.* (2010) em um experimento em que observaram 45,3% inibição do alongamento do hipocótilo de sementes de *Mimosa pudica* quando em contato com o extrato metanólico obtido das folhas de *B. guaianensis* e 36% para o obtido das raízes, e para a *B. macrostachya* foi de 44% e 50%, respectivamente. Comparando ao crescimento da radícula, quando foi utilizando o extrato obtido das folhas de *B. guaianensis*, observou-se inibição de 88,7% e utilizando o extrato das raízes, 75,3%, enquanto que para a *B. macrostachya* os valores foram de 60,7% e 69% para as folhas e raízes (MOURÃO JÚNIOR *et al.*, 2010). Portanto, foi observada uma maior inibição do crescimento da raiz primária da planta.

Ação estimulante do crescimento, como o que ocorreu neste experimento, é efeito pouco relatado na literatura. Aquila *et al.* (1999) relataram este fenômeno quando avaliaram a atividade alelopática da *Achyrocline satureioides* (Lam) DC., sendo que a mesma promoveu o crescimento em baixas concentrações do extrato. Gorla *et al.* (1997) também observaram efeito estimulante no crescimento da radícula de plântulas de tomate em 25% quando avaliaram a atividade alelopática do extrato de *Drimis winteri*, porém neste caso, com o aumento da concentração foi observado atividade inibitória.

As plantas produzem e estocam um grande número de produtos do metabolismo secundário nas suas diversas partes (folhas, caules, raízes, flores, sementes), os quais são posteriormente liberados para o meio ambiente, chamados aleloquímicos. São conhecidos mais de 10 mil metabólitos secundários com ação alelopática, e a interferência causada raramente é provocada por uma única substância, sendo comum que o efeito se deva a um conjunto delas (MALHEIROS, PERES, 2001).

Os efeitos dos aleloquímicos podem variar conforme o órgão da planta onde eles atuam (AQUILA *et al.*, 1999), sendo capazes de causar inibições em um órgão e

pequenos incrementos em outro. Apesar de ser um resultado pouco frequente, trabalhos anteriores já relataram estímulos no crescimento da alface, sendo que uma das explicações para este fato é a ocorrência de interferência dos aleloquímicos sobre os fitormônios. Reigosa *et al.* (1999) relataram que os efeitos dos aleloquímicos nos diferentes processos fisiológicos de uma planta são dependentes da concentração, ou ao menos se espera que sejam, promovendo ativações em baixas concentrações e inibições em altas concentrações.

Na FIGURA 28 é possível observar os efeitos inibitórios e estimulatórios sobre o crescimento das plântulas.

Para massa seca (TABELA 21), não foi observada diferença entre as amostras e controle ou entre as amostras, tanto para as plântulas de alface como para as de cebola. Gatti *et al.* (2004) estudando plântulas de rabanete submetidas a extratos de *A. esperanzae* também não registraram alterações na massa, embora tenham observado alterações no comprimento das plântulas, como o que ocorreu no experimento.

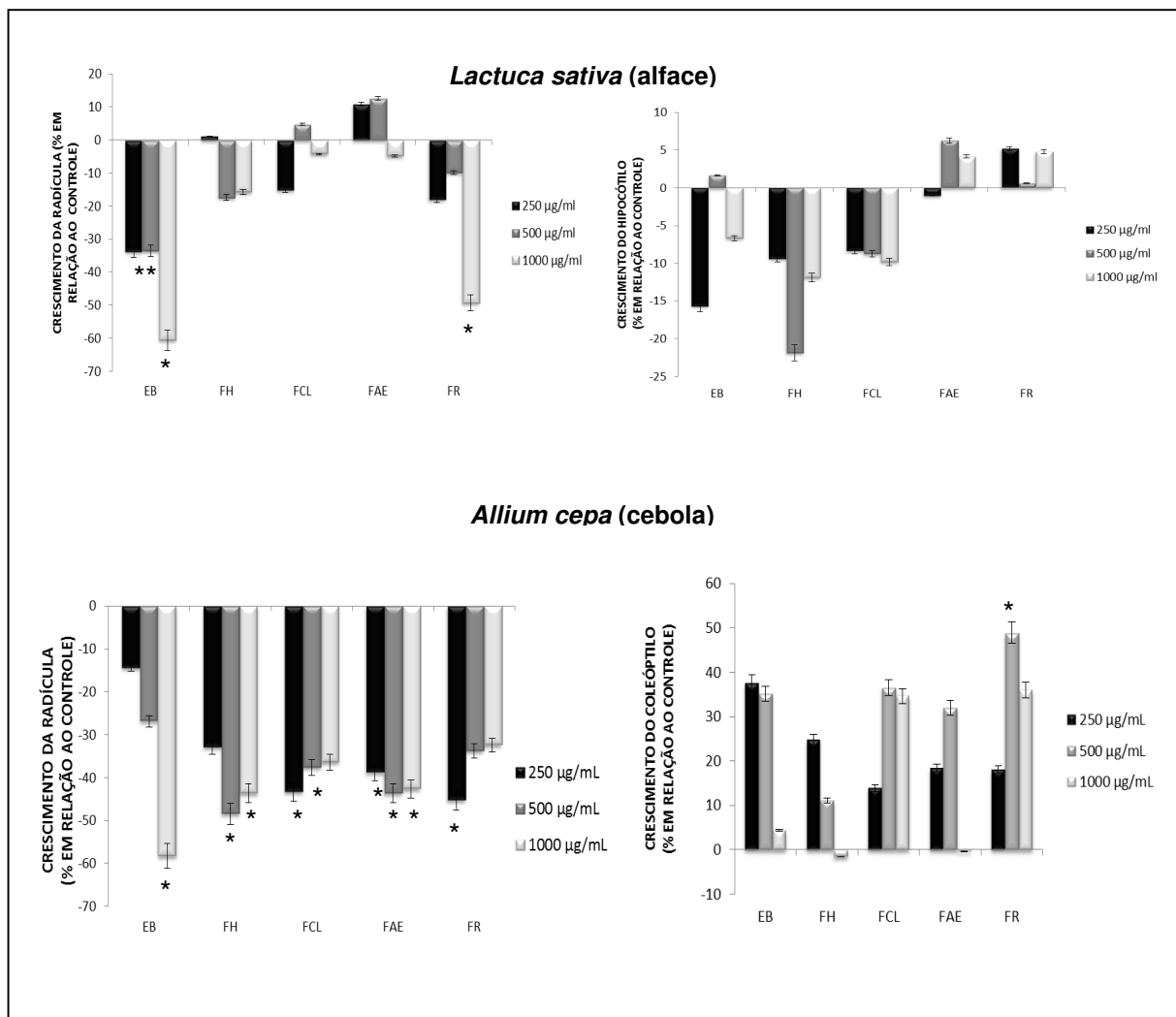


FIGURA 28 - CRESCIMENTO DA RADÍCULA E HIPOCÓTILO DE *L. sativa* E RADÍCULA E COLEÓPTILO DE *A. cepa* SUBMETIDOS A AMOSTRAS DE *B. unguilata* PELO ENSAIO ALEOPÁTICO. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE. * A MÉDIA DO TRATAMENTO DIFERE SIGNIFICATIVAMENTE ($p < 0,05$) EM COMPARAÇÃO COM A MÉDIA DO CONTROLE PELO TESTE DE TUKEY.

4.9.2 Conteúdo de clorofila e respiração radicular

Redução do teor de clorofila total foi observada com as folhas de alface, quando em contato com HF 250, 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, FCL e FAE 500 e 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Aumento do teor de clorofila total foi observado com as folhas da cebola, quando em contato com

a EB e FAE 250 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, HF e FCL 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, FAE e FR 250, 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$.

Quando foi realizado o teste para verificar se as amostras influenciaram no processo de respiração, a estimulação ocorreu com as raízes da alface quando em contato com HF 250 e 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, FCL 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, FAE 250, 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e FR 500 e 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Com as raízes da cebola a respiração foi estimulada com FAE 500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Estes resultados estão ilustrados na TABELA 22.

TABELA 22 – CONTEÚDO DE CLOROFILA TOTAL DAS FOLHAS E RESPIRAÇÃO DAS RAÍZES DE ALFACE E CEBOLA SOB TRATAMENTO COM EXTRATO E FRAÇÕES DE *Bauhinia unguolata*

CONTEÚDO DE CLOROFILA TOTAL (mg L^{-1})						
Tratamento	ALFACE – <i>Lactuca sativa</i> L.			CEBOLA – <i>Allium cepa</i> L.		
	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Amostra						
EB	11,29±0,49 ^{gh}	10,81±0,2 ^{efgh}	11,06±0,15 ^{fgh}	12,20±0,12^h	8,66±0,02^{fg}	2,44±0,70 ^a
FH	5,53±0,43^b	9,75±0,35^{cde}	9,84±0,19^{cdef}	4,35±0,03 ^{abc}	6,66±0,84^{cde}	2,60±0,91 ^a
FCL	10,05±0,57 ^{defg}	8,65±0,56^{bc}	8,47±0,16^b	5,60±0,06 ^{bcd}	10,10±0,25^g	4,23±0,73 ^{abc}
FAE	10,80±0,18 ^{efgh}	9,84±0,74^{cdef}	8,96±0,30^{bcd}	6,25±0,53^{cde}	8,180±0,87^{ef}	4,62±0,73 ^{abc}
FR	10,57±0,62 ^{efgh}	11,44±0,39 ⁿ	10,52±0,37 ^{efgh}	7,70±0,38^{ef}	7,15±0,32^{def}	8,56±1,34^{fg}
Controle	11,20±0,26 ^{gh}	11,20±0,26 ^{gh}	11,20±0,26 ^{gh}	4,15±0,90 ^{ab}	4,15±0,90 ^{ab}	4,15±0,90 ^{ab}
RESPIRAÇÃO (Abs 530nm)						
Tratamento	ALFACE – <i>Lactuca sativa</i> L.			CEBOLA – <i>Allium cepa</i> L.		
	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	250 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	500 $\mu\text{g.mL}^{-1}$	1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Amostra						
EB	0,03±0,01 ^a	0,11±0,04^{bc}	0,12±0,09^{bc}	0,08±0,004^b	0,16±0,01 ^a	0,15±0,03 ^a
FH	0,14±0,03^{bc}	0,14±0,01^{bc}	0,12±0,02^{abc}	0,20±0,03^b	0,14±0,07 ^a	0,09±0,01 ^a
FCL	0,08±0,05^b	0,13±0,02^{bc}	0,17±0,004^{bc}	0,10±0,03 ^a	0,16±0,05 ^a	0,15±0,02 ^a
FAE	0,17±0,03^{bc}	0,18±0,02^{bc}	0,15±0,03^{bc}	0,23±0,02^b	0,26±0,03^b	0,21±0,01^b
FR	0,11±0,005^{bc}	0,20±0,007^c	0,17±0,006^{bc}	0,22±0,01^b	0,20±0,02^b	0,20±0,003^b
Controle	0,03±0,02 ^a	0,03±0,02 ^a	0,03±0,02 ^a	0,14±0,003 ^a	0,14±0,003 ^a	0,14±0,003 ^a

Extrato etanólico bruto (EB), Fração Hexânica (FH), Fração Acetato de etila (FAE) e Fração Hidroalcoólica Residual (FR). Média \pm Desvio Padrão. Médias seguidas com a mesma letra e número na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Um dos fatores ligados à eficiência fotossintética de plantas e, conseqüentemente, ao crescimento e à adaptabilidade a diversos ambientes é o conteúdo de clorofila e carotenoides. Além da concentração total desses pigmentos, a proporção entre eles e entre as clorofilas a e b muda em função da intensidade luminosa ou algum tipo de estresse. O conteúdo de clorofila nas folhas frequentemente é utilizado para estimar o potencial fotossintético das plantas, pela sua ligação direta

com a absorção e transferência de energia luminosa. Uma planta com alta concentração de clorofila e capaz de atingir taxas fotossintéticas mais altas (PORRA *et al.*, 1989; CHAPPELLE, KIM, 1992).

A fotossíntese pode sofrer influência dos aleloquímicos, pois estes provocam mudanças no conteúdo de clorofila das plantas receptoras (CHOU, 1999). A redução ou o aumento da clorofila nos tratamentos pode ser atribuído à inibição ou estímulo da biossíntese de clorofila. Rice (1984) sugere que compostos alelopáticos podem influenciar na rota de síntese de precursores de porfirina da biossíntese de clorofila. Um aumento no teor de clorofila, principalmente a *b*, pode ser relacionado à tentativa de aclimação da espécie, devido sua função fotoprotetora (MARENCO; LOPES, 2005).

Com relação a respiração radicular é possível observar forte interferência das amostras sobre as raízes de *L. sativa*. Com exceção da FCI as amostras interferiram também na respiração de *A. cepa*, como observado na TABELA 22. A respiração celular também pode ser fortemente afetada pela presença de aleloquímicos (RICE, 1984; REIGOSA *et al.*, 1999) que interferem em várias etapas desse processo em um ou mais níveis, dos quais dependem as respostas observadas (CHON *et al.*, 2000).

A respiração das células radiculares pode ser aumentada ou diminuída, dependendo da natureza química dos compostos presentes nos extratos vegetais empregados. Nas amostras testadas observou-se um forte estímulo da respiração radicular observado principalmente com as raízes de *L. sativa* (FIGURA 29).

Ensaio alelopáticos anteriormente realizados com plantas do gênero *Bauhinia* mostraram influências sobre a germinação e o desenvolvimento das espécies-alvo utilizadas (MOURÃO JÚNIOR, SOUZA, 2010; MANOEL *et al.*, 2009).

A alelopatia é definida pela Sociedade Internacional como a ciência que estuda “qualquer processo envolvendo metabólitos secundários produzidos por plantas, algas, bactérias e fungos que influenciam no crescimento e desenvolvimento de sistemas biológicos e agrícolas” (OLIVEROS-BASTIDAS *et al.*, 2009). Estes metabólitos secundários são conhecidos como aleloquímicos e podem ser encontrados nas raízes, rizomas, folhas, caules, pólen, sementes e flores, sendo liberados no ambiente por

exsudação radicular, lixiviação de parte aérea e volatilização ou pela decomposição de material vegetal (RICE, 1984).

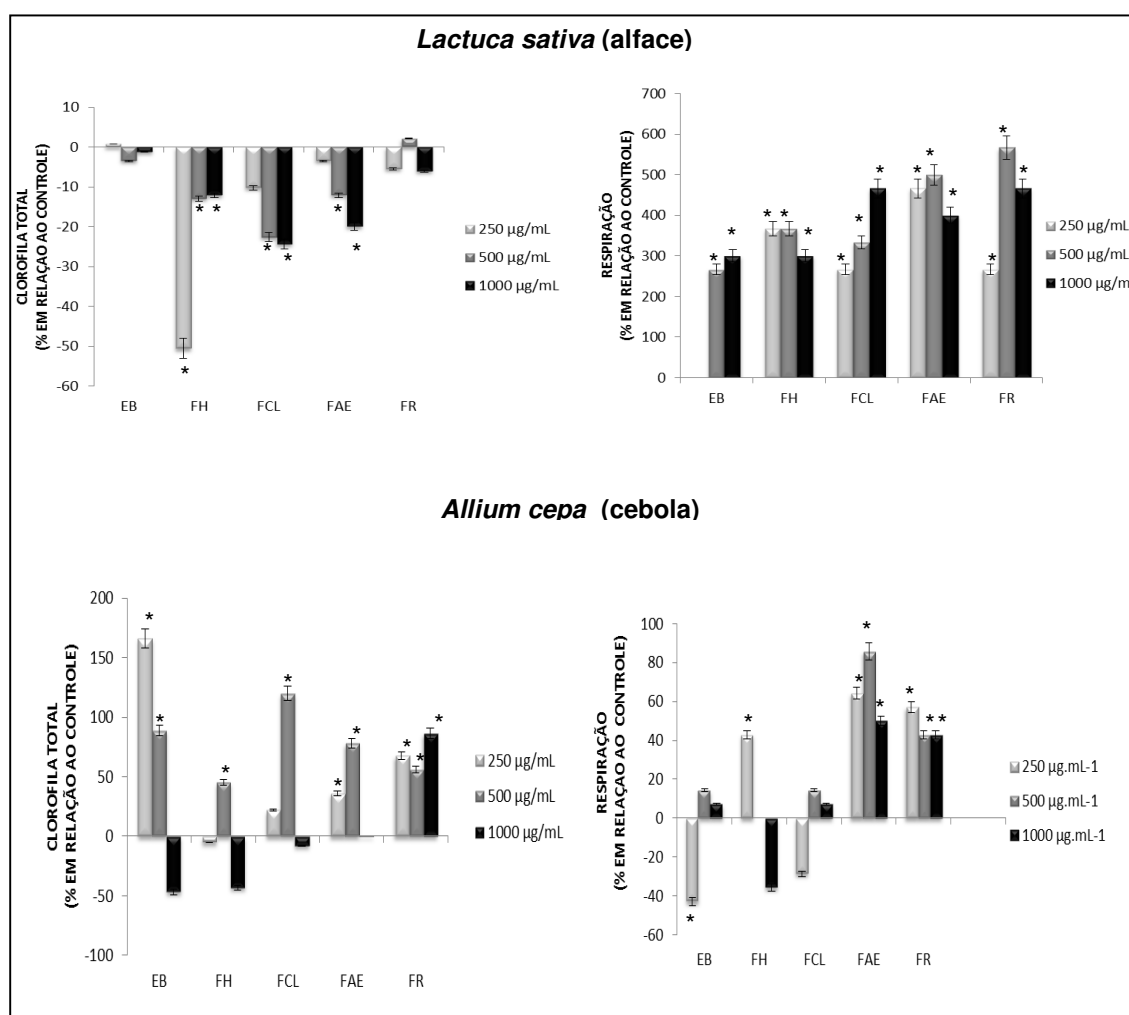


FIGURA 29- TEOR DE CLOROFILA TOTAL E RESPIRAÇÃO DE *L. sativa* E *A. cepa* SUBMETIDAS AO EB, FH, FCL, FAE E FR DE *B. unguilata*. DADOS EXPRESSOS EM PORCENTUAL EM RELAÇÃO AO CONTROLE. * A MÉDIA DO TRATAMENTO DIFERE SIGNIFICATIVAMENTE ($p < 0,05$) EM COMPARAÇÃO COM A MÉDIA DO CONTROLE PELO TESTE DE TUKEY.

Estudos com plantas que apresentam potencial alelopático podem fornecer informações sobre estratégias alternativas para manejo de plantas daninhas, reduzindo a dependência de herbicidas tradicionais na produção agrícola, inseticidas e nematicidas. Além disso, alguns autores sugerem que estes compostos com atividade

alelopática podem ser mais seletivos, biodegradáveis e menos poluentes que os herbicidas tradicionais (MACIAS *et al.*, 2000).

Desta forma, baseado nos resultados obtidos pode-se sugerir que a *B. unguolata* seja fonte de aleloquímicos que interferem no desenvolvimento de outras espécies podendo, portanto, ser utilizada em pesquisas com espécies invasoras e em ensaios alelopáticos em casa de vegetação a fim de complementar a aplicação de suas folhas na pesquisa de novos modelos de herbicidas.

4.10 ATIVIDADE ANTIBACTERIANA

4.10.1 Concentração Inibitória Mínima

A TABELA 23 apresenta os resultados obtidos na técnica de microdiluição em caldo para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM). A determinação da CIM vem sendo bastante utilizada, principalmente devido à sua maior sensibilidade e uso de quantidade mínima de reagentes, o que possibilita um maior número de réplicas, aumentando a confiabilidade dos resultados (OSTROSKY *et al.*, 2008).

TABELA 23 - ATIVIDADE ANTIBACTERIANA DO EXTRATO E FRAÇÕES DE *Bauhinia unguolata* AVALIADO A PARTIR DO TESTE DE MICRODILUIÇÃO EM CALDO

	MICRO-ORGANISMO			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>E. coli</i> ATCC 5922	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
AMOSTRA				
EB	1250 µg.mL ⁻¹	5000 µg.mL ⁻¹	5000 µg.mL ⁻¹	1250 µg.mL ⁻¹
FH	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹
FAE	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹
FCL	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹
FR	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹	>200 µg.mL ⁻¹

Legenda: ATCC - *American Type Culture Collection*; CIM - Concentração Inibitória mínima (µg.mL⁻¹). > = superior a. Interpretação da atividade: CMI ≥ 100 µg.mL⁻¹ = inativo; CMI ≤ 100 µg.mL⁻¹ = ativo.

A maior parte dos trabalhos considera extratos obtidos de plantas com bom potencial inibitório se demonstram atividade em concentrações de até 100 µg.mL⁻¹, atividade inibitória moderada de 100-500 µg.mL⁻¹, atividade fraca de 500-1000 µg.mL⁻¹ e

inativos maiores que $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ (DALL'ANGOL *et al.*, 2003; AYRES *et al.*, 2008). Por outro lado Mitscher *et al.* (1972) considera inativo quando os valores da CIM estão acima de $100 \mu\text{g.mL}^{-1}$, pois não apresentam interesse para uso clínico. Portanto, baseado no interesse clínico, não foi observada atividade do extrato e frações sobre as espécies analisadas, pois ao avaliar a atividade antibacteriana do EB foi observada CIM acima de $1000 \mu\text{g.mL}^{-1}$ e para as frações as CIMs obtidas encontraram-se acima de $200 \mu\text{g.mL}^{-1}$, que foram as maiores concentrações testadas.

Outras espécies de *Bauhinia* também foram analisadas com relação a atividade antibacteriana. Martínez *et al.* (2011) testaram a atividade do extrato etanólico de *B. variegata* sobre *Escherichia coli* utilizando o método da difusão em ágar sem observação de inibição do crescimento bacteriano. O mesmo ocorreu com *Enterobacter aerogenes*, *Providencia* spp, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus* e *Klebsiella* spp que mostraram-se resistentes ao contato com o extrato hidroalcoólico de *B. forficata* também utilizando o método da difusão em disco (GONÇALVES *et al.*, 2013). Folhas e casca do caule de *B. rufescens* foram submetidas a extração com éter de petróleo, acetato de etila e metanol e os extratos resultantes submetidos a avaliação do potencial antibacteriano utilizando MIC e difusão em disco. De acordo com os autores (MUHAMMAD; SIRAT, 2013) foi observado uma maior atividade do extrato acetato de etila das folhas e cascas do caule contra *P.aeruginosa* e *B. subtilis* e do extrato metanólico contra *P. aeruginosa*. Eficácia antibacteriana também foi observada com os extratos acetato de etila, n-butanol e metanol da casca do caule de *B. rufescens* contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* (USMAN, 2009). Adicionalmente, o extrato n-hexano e metanol de *B. racemosa* e *B. variegata* foram investigados contra *Bacillus cereus*, *E. coli*, *S. aureus* e *P. aeruginosa*, sendo o extrato metanólico mais ativo. Souza *et al.* (2004) utilizaram o método da difusão em ágar para avaliar atividade dos extratos e frações da *B. forficata* e *B. microstachya*, encontrando que somente uma fração da *B. forficata* foi capaz de inibir crescimento da *E. coli* e *S. aureus* na concentração de $1.000 \mu\text{g.mL}^{-1}$. A *B. microstachya* não apresentou atividade antibacteriana.

4.11. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

4.11.1 Avaliação da atividade antinociceptiva

4.11.1.1 Nocicepção induzida por formalina.

Os resultados do teste de avaliação da nocicepção pela injeção de formalina (modelo bifásico) na região subplantar da pata de rato estão ilustrados nas FIGURAS 30, 31 e 32.

Os resultados da primeira fase estão ilustrados na FIGURA 30. É possível observar que o EB nas concentrações testadas não promoveu nenhuma interferência no número de *flinches* quando comparados ao grupo controle (veículo), ou seja, que na primeira fase não houve nenhum efeito significativo sobre a nocicepção.

Nesta fase a sensibilidade dolorosa está relacionada ao estímulo direto da formalina sobre o nociceptor (dor de origem neurogênica), e pode ser inibido por substâncias analgésicas de ação central, como a morfina e codeína (HUNSKAAR, HOLE, 1987).

De acordo com os resultados é possível afirmar que o EB não apresenta uma ação analgésica central nas doses testadas na Fase 1, tendo em vista que apresentaram-se estatisticamente iguais ao veículo (controle negativo).

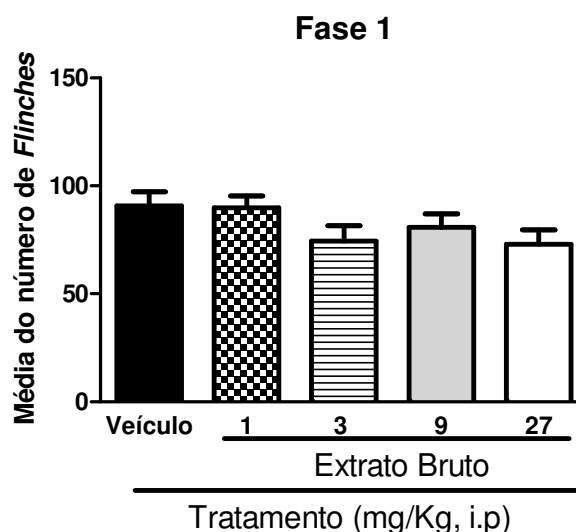


FIGURA 30 – EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA – FASE 1. RATOS TRATADOS COM EB (1, 3, 9 E 27 mg/Kg i.p.) OU VEÍCULO QUE RECEBERAM INJEÇÃO SUBPLANTAR (50 μ L/pata) DE SOLUÇÃO DE FORMALINA 2,5%. AS BARRAS REPRESENTAM A MÉDIA \pm E.P.M. DE GRUPOS DE 8 ANIMAIS NA FASE 1. OS DADOS FORAM AVALIADOS POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) DE UMA VIA, SEGUIDA DO TESTE DE NEWMAN KEULS. * $p < 0,05$ QUANDO COMPARADO AO GRUPO CONTROLE.

O EB das folhas de *B. unguolata* reduziu a sensibilidade à dor somente na fase 2 (FIGURA 31) do teste da formalina (15-60 min) que representa a resposta tônica à dor, que é acompanhada de uma resposta inflamatória ocasionada pela liberação de mediadores químicos da inflamação (HUNSKAAR; HOLE, 1987; TJOLSEN *et al.*, 1992). A fase 2 pode ser inibida por anti-inflamatórios não esteroidais e esteroides, assim como fármacos que atuam centralmente (HUNSKAAR; HOLE, 1987).

Na FIGURA 31, estão ilustradas informações sobre a atividade das 4 doses testadas. É possível observar no gráfico que as doses de 3, 9 e 27 mg/Kg foram capazes de inibir a dor provocada pela formalina, quando comparados ao controle (veículo), correspondendo a uma inibição de 22,3% para a dose de 3 mg/Kg, 32,1% para a dose de 9 e 23,4% para a dose de 27 mg/Kg, resultados observados pela redução no número de *flinches*. Pode-se observar que na dose de 9 mg/Kg a redução do número de elevações da pata houve uma maior inibição. Já com a dose de 1mg/Kg não foi possível observar diferenças quando comparadas ao controle.

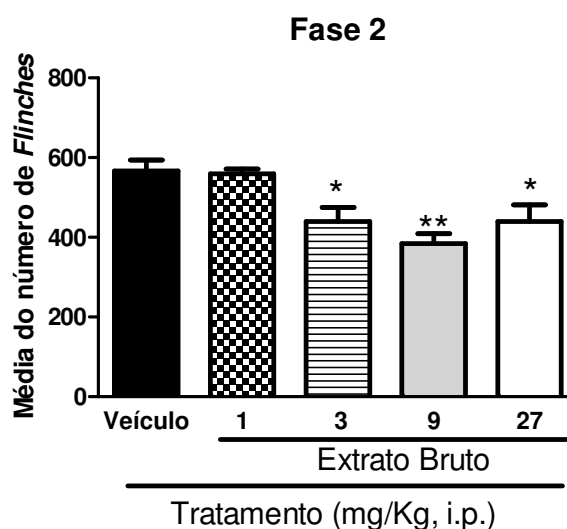


FIGURA 31 – EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA – FASE 2. RATOS TRATADOS COM EB (1, 3, 9 E 27 mg/Kg i.p.) OU VEICULO QUE RECEBERAM INJEÇÃO SUBPLANTAR (50 μ L / pata) DE SOLUÇÃO DE FORMALINA 2,5%. AS BARRAS REPRESENTAM A MÉDIA \pm E.P.M. DE GRUPOS DE 8 ANIMAIS NA FASE 2. OS DADOS FORAM AVALIADOS POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) DE UMA VIA, SEGUIDA DO TESTE DE NEWMAN KEULS. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ QUANDO COMPARADO AO GRUPO CONTROLE.

Com relação ao número de *flinches* totais (soma da fase 1 e 2) pode-se observar que com a dose de 3 mg/Kg houve uma redução de 22%, com 9 mg/Kg a redução foi de 29,46% e com a dose de 27 mg/Kg observou-se redução de 28,78% em relação ao controle (FIGURA 32).

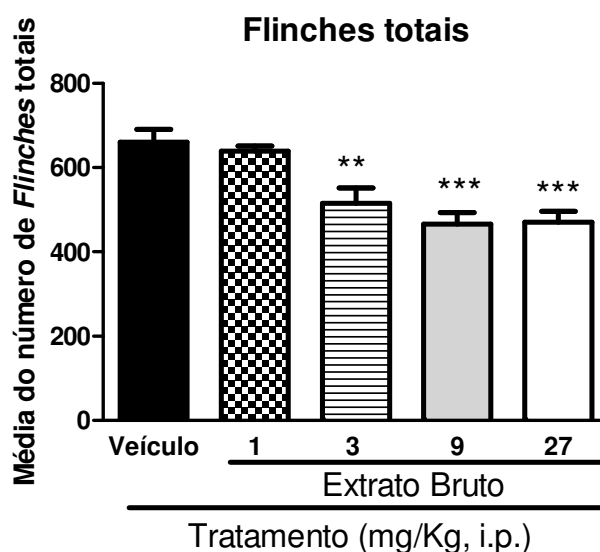


FIGURA 32 - EFEITO DO EB NO ENSAIO DE NOCICEPÇÃO INDUZIDO POR FORMALINA – FLINCHES TOTAIS. RATOS TRATADOS COM EB (1, 3, 9 E 27 mg/Kg i.p.) OU VEICULO QUE RECEBERAM INJEÇÃO SUBPLANTAR (50 μ L / pata) DE SOLUÇÃO DE FORMALINA 2,5%. AS BARRAS REPRESENTAM A MÉDIA \pm E.P.M. DE GRUPOS DE 8 ANIMAIS NO NÚMERO DE FLINCHES TOTAIS. OS DADOS FORAM AVALIADOS POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) DE UMA VIA, SEGUIDA DO TESTE DE NEWMAN KEULS. ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ QUANDO COMPARADO AO GRUPO CONTROLE.

A formalina (estímulo químico) produz uma nocicepção bifásica distinta, com a primeira fase iniciando imediatamente após a injeção até 5 minutos, seguida por um período quiescente com redução dos *flinches*, e a segunda fase com retorno a níveis elevados de nocicepção a partir de 15 minutos continuando até 60 minutos (HUNSKAAR, HOLE, 1987; ARAÚJO *et al.*, 2008). Estas fases têm propriedades diferentes e são ferramentas muito úteis, não só para avaliar a potência de analgésicos, mas também para auxiliar na elucidação dos mecanismos de dor e analgesia. A ação de analgésicos é diferente nas primeira e segunda fases. Fármacos opióides, por exemplo a morfina, que atuam principalmente em nível central, inibem ambas as fases (HUNSKAAR *et al.*, 1985). Fármacos como a dexametasona, hidrocortisona e indometacina inibem somente a segunda fase que está relacionada a uma ação periférica (CHEN *et al.*, 1995; ARAÚJO *et al.*, 2008). No presente estudo o EB foi capaz de inibir apenas a segunda fase do teste.

Outras plantas pertencentes ao mesmo gênero também foram avaliadas com relação a atividade antinociceptiva, como por exemplo o extrato hidroalcoólico da *B. splendens* quando utilizado na dose de 1-60 mg/kg (i.p.) e 50-400 mg/kg (oral), também demonstrou atividade frente a nocicepção induzida pela formalina. Inibiu a primeira e segunda fase em 68 ± 6 e $99 \pm 1\%$, respectivamente, por via i.p. e 37 ± 6 e $69 \pm 9\%$ e por via oral (SILVA; CECHINEL FILHO, 2002). Silva *et al.* (2005) também verificaram redução do efeito da formalina com o uso por via oral do extrato aquoso de *B. cheilantha* em camundongos, com percentagem de inibição de 53,9% para a fase 1 e 57,4% para a fase 2 na dose de 100 mg/Kg.

4.11.1.2 Contorções abdominais induzidas pelo ácido acético

O número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético (estímulo químico) em camundongos foi reduzido em 67,9% pela administração do EB das folhas de *B. unguolata* na dose de 43,3 mg/Kg (via ip.), em relação ao controle negativo (veículo). Este efeito foi observado com menor intensidade para os tratamentos de 4,8 e 13,8 mg/Kg (8,29% e 33,16% respectivamente) que foram estatisticamente idênticos ao veículo. Os resultados estão ilustrados na FIGURA 33 e é possível observar a inibição das contorções promovidas pelo EB.

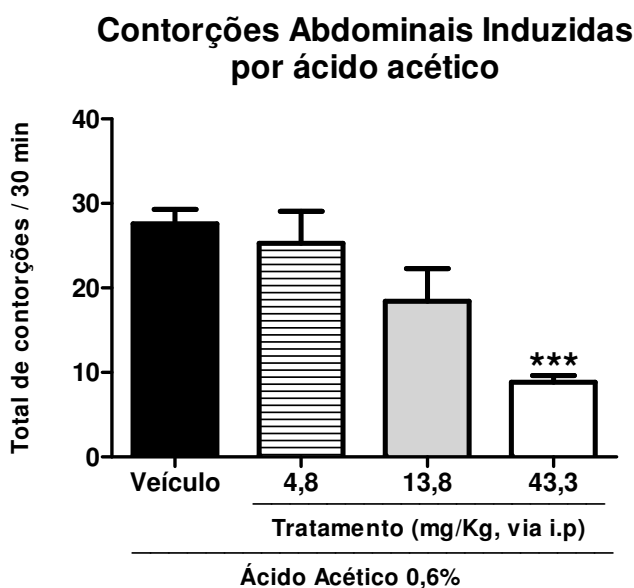


FIGURA 33 - EFEITO DO EB NAS CONTORÇÕES ABDOMINAIS EM CAMUNDONGOS INDUZIDAS PELO ÁCIDO ACÉTICO. OS ANIMAIS RECEBERAM EB (4,8 – 13,8 MG/KG) OU VEÍCULO 30 MIN ANTES DE RECEBER SOLUÇÃO DE ÁCIDO ACÉTICO 0,6% POR VIA I.P. AS BARRAS REPRESENTAM A MÉDIA±E.P.M. DO NÚMERO DE CONTORÇÕES ABDOMINAIS AVALIADOS EM 30 MIN (7 ANIMAIS/GRUPO). OS DADOS FORAM AVALIADOS POR ANÁLISE DE VARIÂNCIA (ANOVA) DE UMA VIA, SEGUIDA DO TESTE DE NEWMAN KEULS. OS SÍMBOLOS ACIMA DAS BARRAS MOSTRAM AS DIFERENÇAS SIGNIFICATIVAS EM COMPARAÇÃO COM O GRUPO VEÍCULO/ÁCIDO ACÉTICO (**p<0,01).

Neste modelo o agente nociceptivo ácido acético é o agente flogístico que provoca irritação na membrana do peritônio e como consequência desencadeia uma série de movimentos estereotipados como contração da parede abdominal, rotação do corpo e extensão das patas traseiras (LE BARS *et al.*, 2001). Adicionalmente, promove uma inflamação aguda do peritônio, e liberação de mediadores endógenos (histamina, serotonina, prostaglandinas e citocinas), que estimulam os nociceptores que são sensíveis aos anti-inflamatórios não-esteróides e/ou opióides (COLLIER *et al.*, 1968; DUTRA *et al.*, 2006; DANIEL *et al.*, 2009). A inibição das contorções pode estar envolvida com o mecanismo de inibição na gênese destes mediadores endógenos, apresentando atividade sobre processos inflamatórios.

Redução no número de contorções também foi observado com outra planta do mesmo gênero em que o extrato hidroalcoólico de *B. splendens*, na dose de 3-60 mg/kg (i.p) ou 50-400 mg/kg (oral) causou inibição dose-dependente, com DI_{50} de 3 mg/kg (via i.p) e 177,6 mg/kg (via oral) e inibição máxima de 95 ± 2 e $61 \pm 6\%$, respectivamente. Comparativamente, a *B. unguolata* apresenta potencial antinociceptivo neste modelo, mas inferior ao da *B. splendens* (WILLAIN FILHO *et al.*, 1997).

4.11.1.3 Teste da placa quente

Como demonstrado na TABELA 24, o EB não promoveu atividade antinociceptiva no teste da placa quente (estímulo térmico) nas doses testadas e no período analisado, pois os resultados não diferem estatisticamente do controle. O EB não foi capaz de aumentar o tempo de tolerância a dor.

TABELA 24 – ATIVIDADE ANTINOCICEPTIVA DO EB DE *Bauhinia unguolata* AVALIADA ATRAVÉS DO TESTE DA PLACA QUENTE

GRUPO	Média do tempo de latência inicial	Após 30 minutos
Controle	9,62 ± 1,27	8,83 ± 4,52
EB 3mg/Kg	9,40 ± 2,76	9,41 ± 2,76
EB 9mg/Kg	8,06 ± 2,27	7,81 ± 2,27
EB 27 mg/Kg	10,97 ± 2,67	8,43 ± 2,67

EB=extrato etanólico bruto. Valores são média ± E.P.M (n=8). Os dados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste de tukey.

O teste da placa quente, é um teste seletivo para detecção de substâncias analgésicas com efeito central e que apresenta seletividade para analgésicos derivados de opióides, e os resultados sugerem que o EB não está relacionado com a ativação dos receptores opióides (SILVA *et al.*, 2009). Ao contrário dos resultados obtidos no presente estudo, Gupta *et al.* (2005) reportam que o extrato metanólico da *B. racemosa* nas doses de 50, 100 e 200 mg/Kg (vo) produziram aumento significativo no tempo de latência dos animais expostos a placa quente.

4.11.2 Avaliação da atividade anti-inflamatória

4.11.2.1 Edema de Pata Induzido por Carragenina

Os resultados relacionados ao ensaio do edema de pata induzido por carragenina são ilustrados na FIGURA 34. Além dos tratamentos com o extrato (3, 9 e 27 mg/Kg) e veículo, é possível observar um subgrupo que corresponde aos animais cuja pata recebeu tratamento somente com salina.

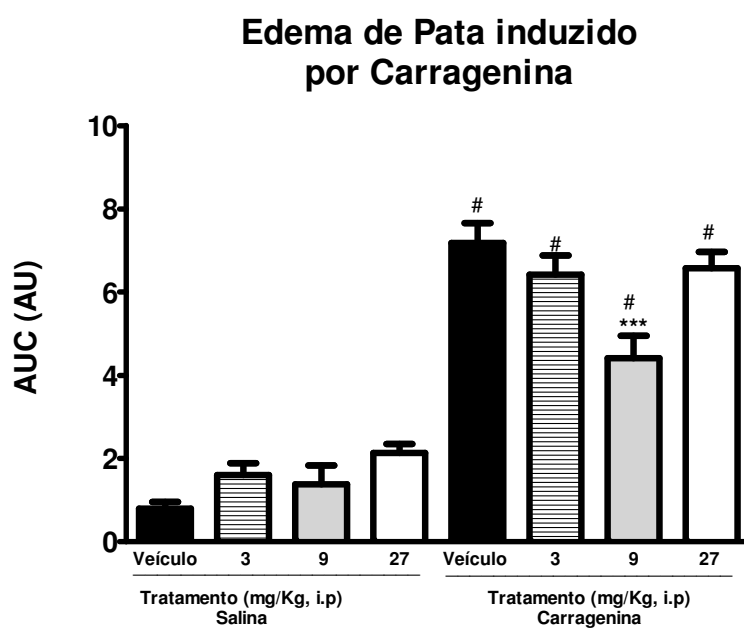


FIGURA 34 –EFEITO DO EB SOBRE O EDEMA DE PATA INDUZIDO POR CARRAGENINA. CADA COLUNA REPRESENTA O VOLUME MÉDIO DA PATA \pm EPM. OS DADOS FORAM SUBMETIDOS A ANÁLISE DE VARIÂNCIA ANOVA SEGUIDO DO TESTE DE NEWMAN KEULS. ASTERISCOS INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICANTES COMPARADAS COM O GRUPO VEÍCULO/CARRAGENINA (** $p < 0,001$). # INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICANTES COMPARADAS COM O GRUPO TRATAMENTO SALINA.

A partir dos resultados é possível observar que o edema formado nas patas dos animais que receberam carragenina, após 4 horas, é visualmente maior do que o provocado para os grupos que receberam somente injeção de salina. Analisando

estatisticamente os grupos tratado somente com salina e os grupos que receberam carragenina, é possível observar que as diferenças são significativas, demonstrando que o edema foi instalado. Comparando as doses utilizadas nos grupos que receberam a carragenina, é possível observar que somente os animais que foram tratados com a dose de 9 mg/Kg obtiveram uma redução do edema de pata de forma significativa ao final das 4 horas de experimento quando comparados ao grupo tratado somente com veículo e carragenina (controle negativo). A redução foi de 38,6% para a dose de 9 mg/Kg, enquanto que para a dose de 3 mg/Kg houve uma redução de 10,6% e na dose de 27 mg/Kg a redução foi de 8,5%.

O edema da pata induzido por carragenina é um modelo de inflamação aguda que envolve uma resposta gradual e complexa (WINTER *et al.*, 1962). A evolução do edema é marcada pela liberação de vários mediadores inflamatórios, tais como histamina, bradicinina, serotonina e prostaglandinas (DI ROSA *et al.*, 1971).

Ao avaliar o extrato da casca do caule de *B. guianensis*, Carvalho *et al.* (1999) encontraram significativa atividade anti-inflamatória quando comparada com os controle no ensaio do edema de pata induzido por carragenina. Resultado semelhante foi observado com o extrato aquoso obtido de folhas de *B. purpurea* (ZAKARIA *et al.*, 2007). Gupta *et al.* (2005) trabalharam com o extrato metanólico da casca de *B. racemosa* e obtiveram uma inibição de 28,1, 39,3 e 44,9% nas doses de 50, 100 e 200 mg/kg (v.o) respectivamente quando comparadas ao controle.

4.11.2.2 Atividade da mieloperoxidase (MPO) e análise histológica

Com relação aos resultados obtidos na avaliação da atividade da mieloperoxidase, é possível observar uma redução na atividade da enzima, ilustrado na FIGURA 35, nos animais pertencentes aos grupos tratados com o EB e com a droga padrão dexametasona quando comparados aos animais do grupo controle (receberam somente a carragenina). Todo material retirado da pata do animal foi pesado e não foi observado diferença estatística significativa entre a massa dos mesmos, demonstrado que as amostras são de tamanhos iguais.

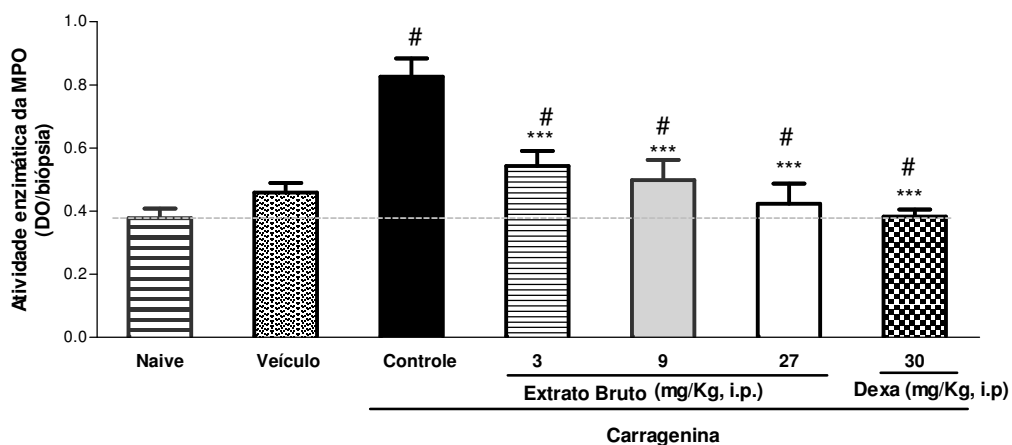


FIGURA 35 - EFEITO DO EB E DEXAMETASONA (DEXA) ADMINISTRADOS POR VIA INTRAPERITONEAL SOBRE O AUMENTO DA ATIVIDADE DA MIELOPEROXIDASE INDUZIDO PELA CARRAGENINA. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM A MÉDIA \pm E.P.M. (n=5). OS SÍMBOLOS REPRESENTAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA QUANDO COMPARADO AO GRUPO CONTROLE (C). ***p<0,001. # INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICANTES COMPARADAS COM O GRUPO QUE NÃO RECEBEU NENHUM TRATAMENTO (NAIVE).

Nos grupos tratados com o extrato nas doses de 3, 9 e 27 mg/Kg foi possível observar uma redução de $63,03 \pm 1\%$, $72,83 \pm 1,4\%$ e $89,76 \pm 1,4\%$, respectivamente, e no grupo tratado com a dexametasona observou-se uma redução de $98,89 \pm 0,8\%$ na atividade da MPO. Estatisticamente, não foi observado diferença significativa nos resultados obtidos entre os grupos tratados com as 3 doses do EB. Adicionalmente, a redução da atividade da MPO observada com os animais previamente tratados com as três doses do EB também foram equivalentes aos tratados com a dexametasona. Também não foi observado nenhuma diferença estatística entre o grupo NAIVE e o grupo veículo, desta forma é possível afirmar que o veículo utilizado para solubilização do extrato não influenciou nos resultados obtidos.

A mieloperoxidase (MPO) é uma das enzimas corporais que produzem espécies reativas de oxigênio (EROs), que catalisa a reação de formação do ácido hipocloroso (HOCl) a partir do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e íons cloreto (KETTLE, GEDYE, WINTERBOURN, 1997). Esta enzima que desempenha um papel fundamental na defesa do hospedeiro, é armazenada no interior de grânulos azurofílicos dos neutrófilos em concentração relativamente alta (até 5% do peso seco da célula) e é

liberada durante a fagocitose, promovendo a destruição de micro-organismos patogênicos pelo HOCl. A MPO também pode ser responsável por uma série de danos nos tecidos do hospedeiro, quando fora dos neutrófilos, principalmente pela oxidação de biomoléculas (BOUFADI *et al.*, 2014). O aumento da atividade da MPO e produção de EROs, especialmente o HOCl, estão associados à várias patologias, como a aterosclerose, câncer, doença de Alzheimer, doença de Parkinson, infarto do miocárdio, entre outros.

É possível relacionar um aumento da atividade da MPO, em proporção direta, ao número de neutrófilos infiltrados no tecido (VENGE, 1994), podendo ser utilizada como marcador da infiltração. Portanto, uma redução na atividade desta enzima pode ser interpretada como uma manifestação de atividade anti-inflamatória (VELJACA *et al.*, 1995). Nos resultados obtidos com o EB de *B. unguata* é possível observar uma redução na atividade desta enzima, sugerindo possível interferência na migração celular durante o processo inflamatório. A infiltração tecidual de leucócitos polimorfonucleares, vasodilatação e edema, são observados após a administração da carragenina, e são característicos do processo inflamatório (HORINOUCI *et al.*, 2013).

Para confirmar que a redução na atividade da MPO pudesse estar relacionada com redução da migração leucocitária, foi realizada a análise histológica. Na FIGURA 36 é possível verificar cortes histológicos representativos das patas dos ratos 24 horas após tratamento com carragenina, e é possível observar a presença de infiltrado de leucócitos em todos os grupos analisados, ilustrados pelos pontos azuis arroxeados na Figura 36 (A-F), em que é observado uma quantidade significativamente maior é encontrada no Grupo controle (FIGURA 36A). No grupo tratado com a dose de 3mg/Kg ainda é possível observar uma grande quantidade de leucócitos, porém nos grupos tratados com 9, 27 mg/Kg, dexametasona e veículo verifica-se uma quantidade inferior.

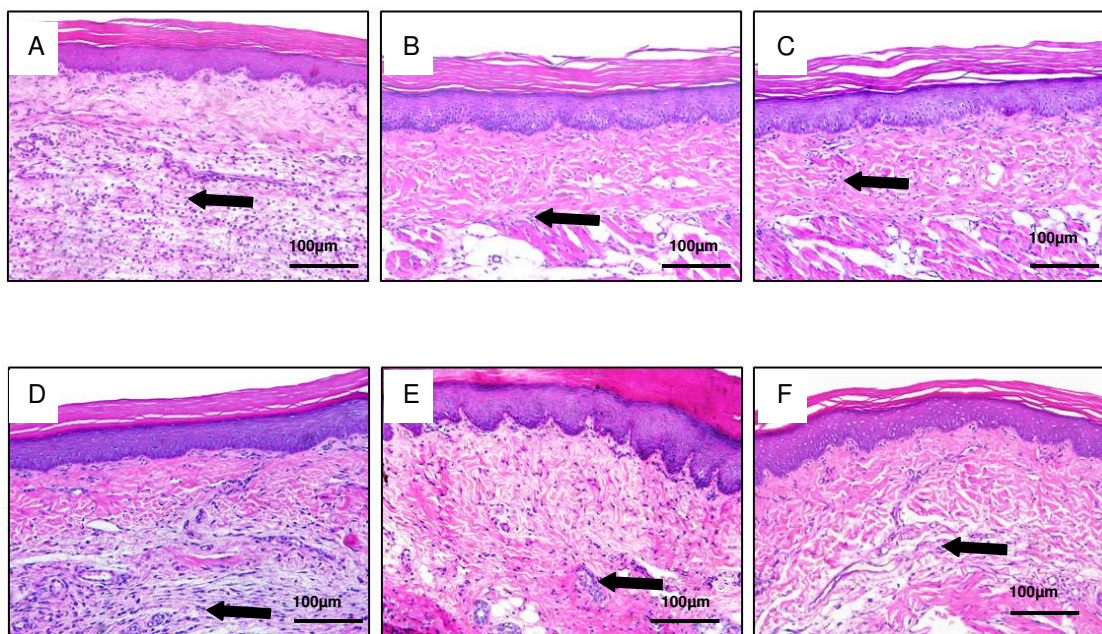


FIGURA 36 - FOTOS REPRESENTATIVAS DOS CORTES HISTOLÓGICOS DAS PATAS DOS RATOS CORADOS COM HEMATOXILINA-EOSINA (HE) (400x, ESCALA DE 100 µm), 24 HORAS APÓS APLICAÇÃO DE CARRAGENINA. (A) CARRAGENINA, (B) VEÍCULO, (C) TRATAMENTO COM DEXAMETASONA (D) TRATAMENTO COM EB 3mg/Kg (E) TRATAMENTO COM EB 9mg/Kg (F) TRATAMENTO COM EB 27mg/Kg. AS SETAS INDICAM A PRESENÇA DE DE INFLAMADO CELULAR NAS AMOSTRAS COLETAS

A inibição da infiltração celular pode ser confirmada pela quantificação dos leucócitos na derme, e os resultados são apresentados na FIGURA 37. O tratamento com EB foi capaz de reduzir a infiltração celular, apresentando inibição de $35,63 \pm 1,1\%$, $41,92 \pm 0,8\%$ e $61,02 \pm 1,6\%$ para as doses de 3, 9 e 27mg/Kg respectivamente, e $73,28 \pm 0,9\%$ com a dexametasona de maneira comparável com o controle (considerado 100%). É possível verificar que a redução da atividade da enzima MPO pode ser resultado de uma ação sobre a migração de neutrófilos para o tecido inflamado, pois nesta análise histológica verificamos uma redução na celularidade nas 3 doses utilizadas (FIGURA 37).

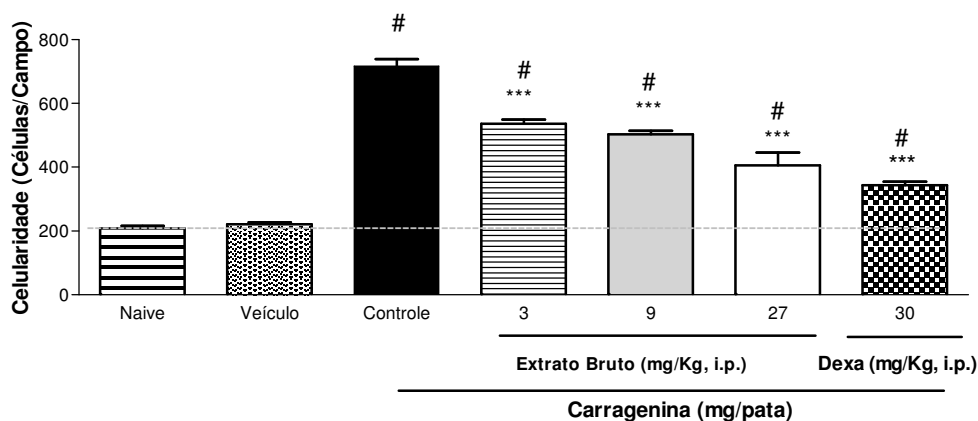


FIGURA 37 - EFEITO DO EB DA DEXAMETASONA SOBRE A MIGRAÇÃO LEUCOCITÁRIA INDUZIDA PELA APLICAÇÃO DE CARRAGENINA. A QUANTIFICAÇÃO FOI REALIZADA ATRAVÉS DA CONTAGEM DOS LEUCÓCITOS TOTAIS COM AUMENTO DE 400X EM CINCO CAMPOS DISTINTOS DE QUATRO CORTES HISTOLÓGICOS DE CADA GRUPO. AS BARRAS VERTICAIS REPRESENTAM A MÉDIA \pm E.P.M. ($n=5$). OS SÍMBOLOS REPRESENTAM O NÍVEL DE SIGNIFICÂNCIA QUANDO COMPARADO AO GRUPO CONTROLE (C). *** $p<0,001$. # INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICANTES COMPARADAS COM O GRUPO QUE NÃO RECEBEU NENHUM TRATAMENTO (NAIVE).

Estatisticamente, não foi observado diferença significativa nos resultados obtidos entre os grupos tratados com as 3 doses do EB, todos reduziram a quantidade de infiltrado celular quando comparado ao controle. Adicionalmente, a redução da celularidade observada com estes animais também foram equivalentes aos tratados com a dexametasona. Também não foi observado nenhuma diferença estatística entre o grupo NAIVE e o grupo veículo, desta forma é possível afirmar que o veículo utilizado para solubilização da carragenina não influenciou nos resultados obtidos.

Analisando os resultados fica evidente que o EB é capaz de diminuir a atividade da MPO, sugerindo possível interferência na migração celular durante o processo inflamatório. A análise histológica claramente confirmou que o EB, assim como a dexametasona, inibiu o influxo de polimorfonucleares induzido pela carragenina na pata do rato.

Com relação a capacidade de reduzir a atividade desta enzima, outras plantas do mesmo gênero foram analisadas. Sousa *et al.* (2004) demonstraram em um estudo atividade inibitória da MPO pelo isolado Canferol-3,7-O-(R)-diramnosídeo

(kaempferitrina), o flavonoide encontrado em maior quantidade nas folhas da *B. forficata*. Já Khalil, Pepato e Brunetti (2008) demonstraram em um experimento forte atividade inibitória do extrato aquoso da *B. forficata* sobre a MPO, com 61% de inibição na dose de 25 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 85% com 50 ou 100 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. O extrato metanólico das folhas de *B. tomentosa* também demonstrou redução da MPO em um experimento conduzido em modelos de colite ulcerativa induzida por ácido acético (KANNAN; GURUVAYOORAPPAN, 2013). Com relação aos compostos isolados das folhas da *B. unguolata*, Petacci *et al.* (2010) relatam que a astilbina é um potente antioxidante que inibe de forma eficiente a MPO. Além disso o canferol também mostrou-se eficiente na inibição da enzima (REGASINI *et al.*, 2008b; BOUFADI *et al.*, 2014).

4.11.3 Efeito do extrato sobre o desempenho motor no teste de atividade locomotora

Como ilustrado na FIGURA 38, foi observado que o EB obtido das folhas de *B. unguolata* não modificou o parâmetro comportamental avaliado (número total de cruzamentos ou quadros andados) quando comparados com o grupo veículo.

Pelo fato de não terem sido observadas diferenças entre os animais tratados com o EB nas três doses e o veículo, é possível concluir que o EB nas doses testadas, não interfere na atividade locomotora do animal. Desta forma, é possível afirmar que os resultados obtidos nos modelos de antinocicepção não foram causados por uma possível ação sobre a atividade locomotora ou relaxante muscular.

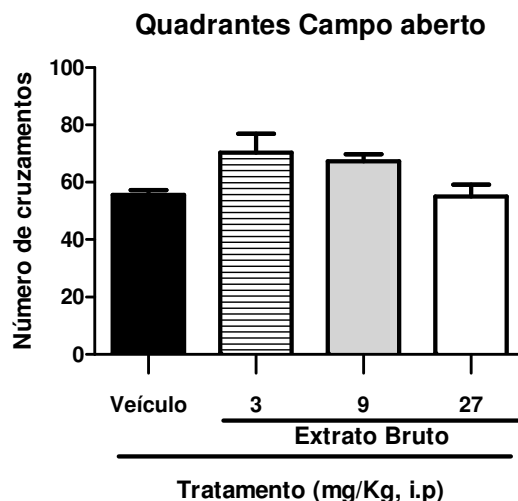


FIGURA 38 - EFEITO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO E VEÍCULO SOBRE O PARÂMETRO COMPORTAMENTAL FREQUÊNCIA DE LOCOMOÇÃO NO TESTE DO CAMPO ABERTO. OS ANIMAIS FORAM TRATADOS INTRAPERITONEALMENTE COM O VEÍCULO E EXTRATO (3, 9 e 27 mg/Kg, i.p.) 30 MINUTOS ANTES DO TESTE. CADA COLUNA REPRESENTA A MÉDIA DE 8 ANIMAIS E AS BARRAS VERTICAIS INDICAM OS ERROS PADRÕES DA MÉDIA (EPM). OS DADOS FORAM SUBMETIDOS A ANÁLISE DE VARIÂNCIA ANOVA SEGUIDO DO TESTE DE NEWMAN KEULS. ASTERISCOS INDICAM DIFERENÇAS SIGNIFICANTES COMPARADAS COM O GRUPO VEÍCULO (** $p < 0,05$).

4.12. ATIVIDADE SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS

Os resultados observados com as substâncias isoladas são apresentados na TABELA 25 e são expressos como ativação positiva (+) e negativa (-).

TABELA 25 – ATIVIDADE DAS AMOSTRAS DE *Bauhinia unguolata* L. SOBRE NEUTRÓFILOS HUMANOS

AMOSTRA	CONCENTRAÇÃO ($\mu\text{g. mL}^{-1}$)				CONTROLES		
	2,5	5	10	15	PMA	NBT	SANGUE
Astilbina	-	-	-	-	+	-	-
Quercetina	-	+	-	-	+	-	-
Engeletina	-	-	-	+	+	-	-
Afelina	-	-	-	-	+	-	-
Canferol	-	+	-	-	+	-	-

NOTA: PMA (13-acetato de forbol éster 12-miristato)=(+) ativação positiva; NBT (azul de *p*-Nitrotetrazólio) e sangue = (-) ativação negativa

É possível observar que somente os composto BAU3A ($5 \mu\text{g.mL}^{-1}$), BAU4 ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e BAU5 ($5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) ativaram neutrófilos. Na FIGURA 39 é possível observar fotos dos controles negativos (neutrófilos (A), neutrófilos com NBT (B) e positivo (neutrófilo com PMA) utilizados no experimento.

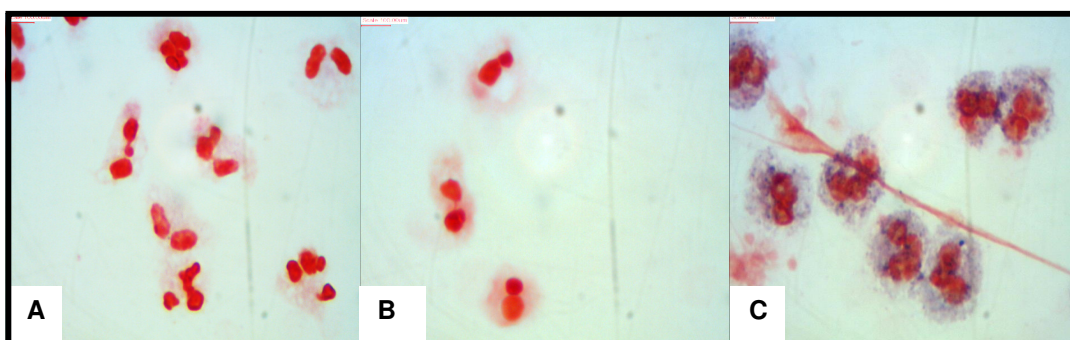


FIGURA 39 – NEUTRÓFILOS ISOLADOS: (A) SEM TRATAMENTO (B) COM NBT (C) COM PMA

Os neutrófilos são considerados a primeira linha de defesa do organismo pois são os primeiros componentes celulares do sistema imune inato que chegam aos sítios de inflamação, onde se encontram os micro-organismos invasores e partículas estranhas. Quando estimulados são capazes de produzir um metabolismo oxidativo conhecido como “*burst*” (surto ou explosão) oxidativo ou respiratório caracterizado pela produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) que são essenciais para a defesa contra microrganismos na fagocitose (BRIHEIM *et al.*, 1984).

O metabolismo oxidativo dos neutrófilos é mediado pelo complexo enzimático chamado nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido (NADPH) oxidase, que catalisa a produção do ânion superóxido O_2^- , pela redução do oxigênio, tendo o NADPH como doador de elétrons.

Após a fagocitose, inicia-se o processo da montagem do complexo NADPH oxidase e essas células começam a explosão respiratória, caracterizada pelo rápido consumo de glicose e de oxigênio molecular, utilizados na produção intensa de radicais livres de oxigênio, altamente reativos (DELEO *et al.*, 2009; RIGBY; DELEO, 2012). A produção destes radicais pode ser visualizada através da redução do azul *p*-

Nitrotetrazólio (NBT) levando a formação de um produto de coloração azul (formazan) que se deposita no citoplasma do neutrófilo (FORTE *et al.*, 1999), observado nas amostras que apresentaram ativação positiva, como o PMA.

Substâncias que estimulam os neutrófilos a liberarem radicais ativos de oxigênio, ou seja, imunomoduladoras, podem ser estudadas para a utilização em doenças que apresentam defeito funcional desses fagócitos, como por exemplo, a doença granulomatosa crônica, ou em outras doenças como parasitárias e bacterianas, em que a ativação dos neutrófilos para liberação de espécies reativas de oxigênio seja necessária (DIAS, 2012).

4.13 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE POR REDUÇÃO DO MTT

Os resultados de viabilidade celular no ensaio de citotoxicidade por redução do MTT estão demonstrados na FIGURA 40. As substâncias isoladas BAU2, BAU3A, BAU4 e BAU6 nas diferentes concentrações testadas não demonstraram atividade citotóxica significativa sobre as células da linhagem SiHa nas concentrações testadas, tendo em vista que as viabilidades celulares dos ensaios foram superiores a 50%. O controle positivo, Doxorrubicina (Doxo), mostrou claramente ser citotóxico pois apresentou média de 18,44% de células viáveis no experimento.

Este ensaio foi realizado em face da necessidade de se encontrar novos fármacos com atividade antineoplásica, procurando identificar substâncias isoladas de plantas brasileiras capazes de impedir a proliferação de células de carcinoma cervical infectadas por HPV-16 (SiHa).

Atualmente, o câncer cervical é considerado a segunda causa mais comum entre as mulheres e encontra-se associado ao Papilomavírus Humano (HPV), que infecta células epiteliais escamosas, dando origem a grandes lesões.

O fundamento do teste de MTT está relacionado com a capacidade que as células viáveis possuem de reduzir o sal tetrazólico MTT em um produto de cor azul denominado formazan (cor violeta e insolúvel). Esta reação ocorre na mitocôndria e é mediada pela enzima intracelular succinato-desidrogenase. O resultado do teste é

dependente, portanto, da população celular viável, capaz de metabolizar o formazan (MOSMANN, 1983). O MTT é clivado pelas células vivas, mas não pelas células mortas ou por eritrócitos, desta forma é um teste útil para avaliação da viabilidade celular.

Com relação à outras plantas do mesmo gênero, foram localizados na literatura somente estudos de atividade citotóxica contra outras linhagens celulares que dão origem a outros tipos de câncer. O extrato metanólico da *B. purpurea* foi testado contra três linhagens de células tumorais a MDA-MB435 (melanoma- humano), HCT-8 (côlon - humano) e SF-295 (glioblastoma - humano) apresentando baixa toxicidade (SANTOS *et al.*, 2014). Também não foi observado nenhum efeito citotóxico de flavonoides glicosilados (quercetina-3-O-galactopiranosídeo, miricetina-3-O-galactopiranosídeo e 2"-O-rhamnosilvitexina obtidos da *B. galpinii* (ADEROGBA *et al.*, 2007).

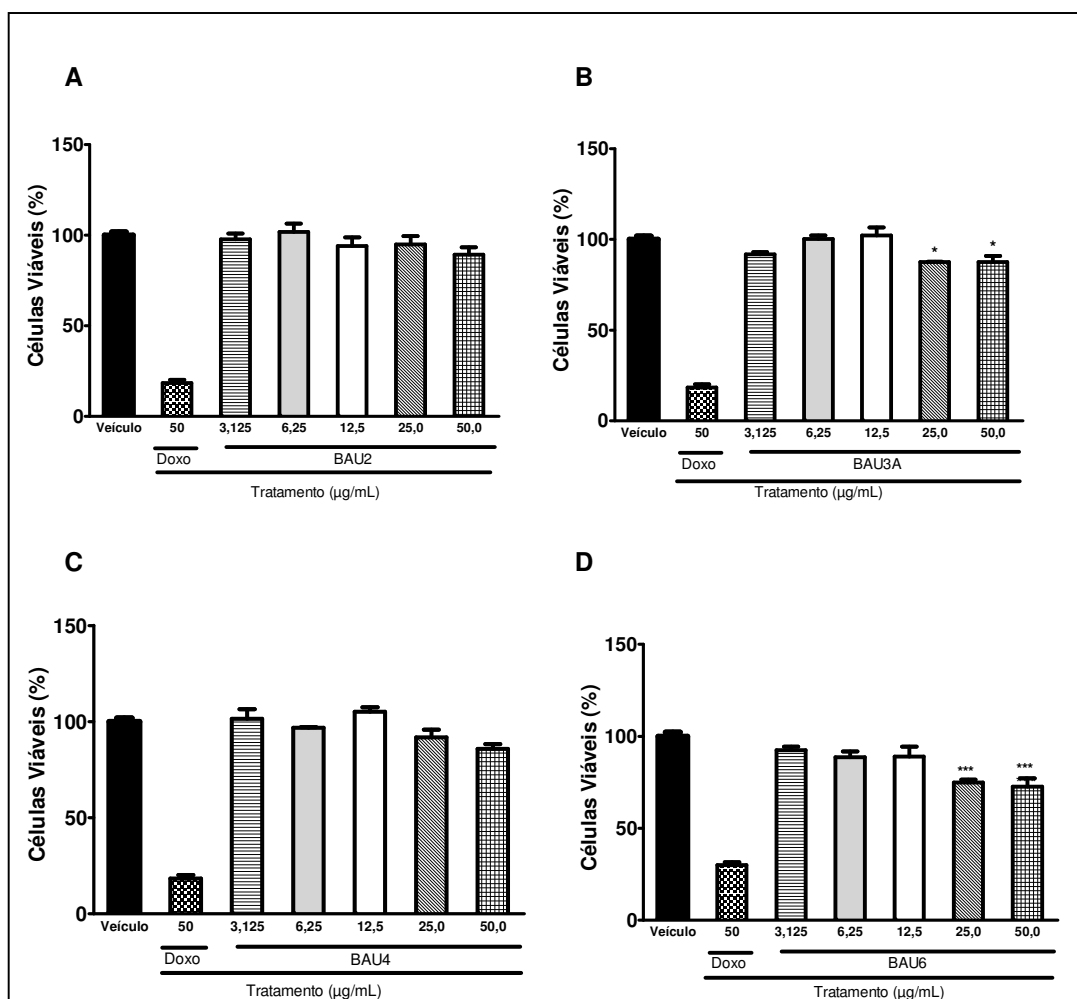


FIGURA 40 - ENSAIO DE CITOTOXICIDADE (MTT). PORCENTAGEM DE CÉLULAS VIÁVEIS NA LINHAGENS SIHA (HPV16) TRATADAS COM ASTILBINA (A), QUERCETINA (B), ENGELETINA (C) E CANFEROL (D). OS DADOS REFEREM-SE ÀS MÉDIAS (M) DE TRÊS EXPERIMENTOS INDEPENDENTES E ERRO PADRÃO (M ± EP). DOXO= DOXORRUBICINA

5 CONCLUSÃO

As amostras analisadas com relação aos parâmetros farmacopeicos, teor de água e cinzas totais, estão de acordo com o estabelecido na Farmacopeia Brasileira.

Na análise fitoquímica preliminar foi possível observar através das reações de caracterização utilizadas a presença de leucoantocianidinas, heterosídeos antraquinônicos e esteroides triterpenos na FH; alcaloides, flavonoides e esteroides triterpenos na FCL; alcaloides, leucoantocianidinas, flavonoides, heterosídeos antraquinônicos e esteroides triterpenos na FAE e alcaloides e esteroides triterpenos na FR além de aminogrupos, taninos condensados e ácidos fixos no extrato aquoso.

O extrato bruto etanólico obtido a partir das folhas de *Bauhinia unguolata* foi fracionado com solventes de polaridade crescente obtendo-se as frações hexano (FH), clorofórmio (FCL), acetato de etila (FAE) e hidroalcoólica residual (FR).

A FAE foi submetida à cromatografia em coluna e posteriormente a separação dos constituintes por CLAE obtendo-se 7 compostos, BAU1, BAU2, BAU3A, BAU3A1, BAU4, BAU5 e BAU6, sendo identificados os compostos BAU2 (astilbina), BAU3A (quercetina), BAU4 (engeletina), BAU5 (afzelina) e BAU6 (canferol).

Sobre o ensaio com a *Artemia salina*, as amostras testadas não apresentaram toxicidade, pois os resultados da CL_{50} foram superiores a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Com relação aos ensaios de atividade hemolítica as amostras avaliadas não apresentaram toxicidade frente aos modelos testados.

O conteúdo de fenólicos totais do extrato e frações foram considerados altos, com destaque para a FAE, podendo correlacionar estes resultados com um alto poder antioxidante.

Alto nível de atividade antioxidante foi observado com o extrato e frações, pelos métodos analisados utilizando fosfomolibdênio, radical DPPH e TBARS, podendo a planta ser considerada como nova fonte de antioxidantes naturais.

No bioensaio da germinação da avaliação da atividade alelopática foi possível observar que somente o EB e FH foram capazes de inibir o IVG e o tamanho da radícula da alface mas não interferiu na massa seca. Fração hexano, FAE e FCL foram capazes de reduzir o teor de clorofila da alface e cebola e na respiração somente a

alface sofreu interferência. Com base nos resultados obtidos, é possível sugerir que compostos alelopáticos estavam presentes nos extratos e ocasionaram tais efeitos.

No ensaio de atividade antibacteriana não foi verificada a inibição do crescimento das bactérias testadas com EB e frações.

Nos ensaios da atividade farmacológica, baseado nos resultados obtidos dos testes de contorções abdominais, formalina, edema de pata, observa-se que o extrato etanólico possui efeito antinociceptivo. Ação anti-inflamatória foi observada com o teste do edema de pata induzido por carragenina e demonstrado pela redução da atividade da mieloperoxidase principalmente pela redução da infiltração de polimorfonucleares.

As substâncias quercetina ($5 \mu\text{g.mL}^{-1}$), engeletina ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e afzelina ($5 \mu\text{g.mL}^{-1}$) apresentaram-se como ativadoras dos neutrófilos humanos, ou seja, imunomoduladoras.

As substâncias isoladas astilbina, quercetina, engeletina e canferol não demonstraram atividade citotóxica significativa sobre células viáveis na linhagens SiHa (HPV16).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os flavonoides encontrados na FAE provenientes das folhas de *B. unguolata* não são inéditos, mas quatro deles (astilbina, engeletina, afzelina e canferol) foram encontradas pela primeira vez nesta espécie.

Pelos ensaios realizados neste trabalho, o extrato etanólico e as frações não apresentaram-se tóxicos frente à *A. salina* ou hemolíticos, dando indícios de segurança em um possível uso terapêutico desta espécie, o que deve ser confirmado em ensaios futuros. Também não foi observada atividade antibacteriana do extrato e frações, além da citotóxica de compostos isolados frente as cepas e linhagens celulares utilizadas.

Os ensaios realizados com o extrato etanólico e frações demonstraram que as folhas são fonte potencial de substâncias polifenólicas, como os flavonoides encontrados. Ao avaliar o potencial antioxidante *in vitro*, os resultados indicaram que a espécie pode ser uma fonte promissora de antioxidantes naturais, com destaque para a FAE, que estimulam novos estudos relacionados a atividades farmacológicas objetivando a produção de medicamentos destinados ao tratamento de patologias associadas as espécies reativas de oxigênio.

Com relação ao potencial alelopático os resultados obtidos evidenciam que extrato e frações das folhas de *B. unguolata*, em algumas concentrações são capazes de interferir no metabolismo, principalmente no crescimento radicular, teor de clorofila e respiração radicular das espécies avaliadas. Estas informações poderão ser úteis para futuras pesquisas de desenvolvimento de compostos químicos bioativos que servirão de modelo para estudo de herbicidas potenciais para controle de eudicotiledôneas e monocotiledôneas.

Com relação a avaliação da atividade antinociceptiva e anti-inflamatória em modelos *in vivo*, observou-se que o extrato etanólico obtido das plantas apresentou atividade, sendo necessária a complementação do estudo com a investigação dos compostos isolados do extrato e de seus mecanismos de ação.

No estudo de avaliação da atividade imunomoduladora foi observado que alguns compostos presentes na FAE em algumas concentrações foram capazes de estimular neutrófilos, sugerindo-se possível eficácia em algumas patologias

relacionadas a defeito funcional desses fagócitos. Atividade esta que deve ser confirmada em estudos futuros.

Diante dos resultados apresentados neste trabalho pelas amostras obtidas das folhas de *Bauhinia unguolata* L. é possível inferir à ela propriedades capazes de influenciar sistemas biológicos, sendo considerada espécie interessante para investigação de atividades farmacológicas e o desenvolvimento de futuros medicamentos.

REFERÊNCIAS

ABDELWAHAB, S. I.; TAHA, M. M. E.; ABDULLA, M. A.; NORDIN, N.; HADI, A. H. A.; MOHAN, S.; JAYAPALAN, J. J.; HASHIM, O. H. Gastroprotective mecanismo of *Bauhinia thonningii* Schum. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, p. 277–286, 2013.

ABREU, J. S.; MARZOCCHI-MACHADO, C. M.; URBACZEK, A. C.; FONSECA, L. M.; URBINATI, E. C. Leukocytes respiratory burst and lysozyme level in pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887). **Brazilian Journal of Biology**, v. 69, n.4, p. 1133-1139, 2009.

ACHENBACH, H.; STOCKER, M.; CONSTENLA, M. A. Flavonoid and others constituents of *Bauhinia manca*. **Phytochemistry**, v. 27, p. 1835–1841, 1988.

ADEROGBA, M. A.; OGUNDAINI, A. O.; ELOFF, J. N. Isolation of two flavonoids from *Bauhinia monandra* (kurz) leaves and their antioxidative effects. **African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines (AJTCAM)**, v. 3, n. 4, p. 59-65, 2006.

ADEROGBA, M. A.; MCGAW, L. J.; OGUNDAINI, A. O.; ELOFF, J. N. Antioxidant activity and cytotoxic study of the flavonol glycosides from *Bauhinia galpinii*. **Natural product research**, v. 21, n. 7, p. 591-599, 2007.

AGRAWAL, R. C.; PANDEY, S. Evaluation of Anticarcinogenic and Antimutagenic Potential of *Bauhinia variegata* Extract in Swiss Albino Mice. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 10, n. 5, p. 913-916, 2009.

AHMED, A.S.; ELGORASHI, E. E.; MOODLEY, N.; MCGAWA, L. J.; NAIDOO, V.; ELOFF, J. N. The antimicrobial, antioxidative, anti-inflammatory activity and cytotoxicity of different fractions off our South African *Bauhinia* species used traditionally to treat diarrhoea. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 826–839, 2012.

AKHTAR, A. H.; AHMAD, K. U. Anti-ulcerogenic evaluation of the methanolic extracts of some indigenous medicinal plants of Pakistan in aspirin-ulcerated rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 46, p. 1-6, 1995.

ALI, M. S.; AZHAR, I.; AMTUL, Z.; AHMAD, V. U.; USMANGHANI, K. Antimicrobial screening of some Caesalpiniaceae. **Fitoterapia**, v. 70, p. 299–304, 1995.

ALIYU, A. B.; IBRAHIM, M. A.; MUSA, A. M.; IBRAHIM, H.; ABDULKADIR, I. E.; OYEWALE, A. O. Evaluation of antioxidant activity of leave extract of *Bauhinia rufescens* Lam. (Caesalpiniaceae). **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 3, n. 8, p. 563-567, 2009.

ALMANZA, G. R.; MOLLINEDO, P. A.; VILA, J. L.; CALLAPA, G.; SAUVAIN, M. "Flavonoids of *Bauhinia guianensis*". **Revista Boliviana de Quimica**, v. 18, n. 1, p. 47-52, 2001.

ALMEIDA, E. R.; GUEDES, M. C.; ALBUQUERQUE, J. F.; XAVIER, H. Hypoglycemic effect of *Bauhinia cheilandra* in rats. **Fitoterapia**, v. 77, p. 276–278, 2006.

ALVES, J. M.; MUNARI, C. C.; MONTEIRO NETO, M. A. B.; FURTADO, R. A.; SENEDESE, J. M.; BASTOSB, J. K.; TAVARES, D. C. In vivo protective effect of *Copaifera langsdorffii* hydroalcoholic extract on micronuclei induction by doxorubicin. **Journal of Applie. Toxicology**, v. 33, p. 854–860, 2013.

AMIC´, A.; MARKOVIĆ, Z.; JASMINA, M.; MARKOVIĆ, D.; STEPANIĆ, V.; LUČIĆ, B.; AMIC´, D. Towards an improved prediction of the free radical scavenging potency of flavonoids: The significance of double PCET mechanisms. **Food Chemistry**, v. 152, p. 578-585, 2014.

ANANTH, K. V. ; ASAD, M.; KUMAR, N. P.; ASDAQ, S. M. B.; RAO, G. S. Evaluation of Wound Healing Potential of *Bauhinia purpurea* Leaf Extracts in Rats. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 72, n. 1, p. 122–127, 2010.

ANJANEYULU, A.S.R.; REDDY, A.V. R.; REDDY, D.S.K. Pacharin: a new dibenzo (2,3-6,7) oxepin derivate from *Bauhinia racemosa* Lank. **Tetrahedron**, v. 40, n. 21., p. 426-4252, 1984.

ANJANEYULU, A. S. R.; REDDY, A. V. R.; REDDY, D. S. K. Racemosol: a new tetracyclic phenol from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, v. 42, n. 9, p. 2417-2420, 1986.

ANSARIA, M.A.; ABDULA, H. M.; JOSHIA, G.; OPIIA, W. O.; BUTTERFIELD, D. A. Protective effect of quercetin in primary neurons against A β (1–42): relevance to Alzheimer's disease. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 20, p. 269–275, 2009.

APG III -THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 161, p. 105–121, 2009.

AQUILA, M. E. A. Preliminary observation on allelopathic activity in *Achyrocline satureioides* (Lam.) DC. **Acta Horticulturae**, p.383-388, 1999.

ARAÚJO, A. A. S.; BONJARDIM; L. R.; MOTA, E. M.; ALBUQUERQUE-JÚNIOR, R. L. C.; ESTEVAM, C. S.; CORDEIRO, L.; SEIXAS, S. R. S.; BATISTA, J. S.; QUINTANS-JÚNIOR, L. J. Antinociceptive activity and toxicological study of aqueous extract of *Egletes viscosa* Less (Asteraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 4, p. 707-715, 2008.

ARCHER, J. Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.

ARGÔLO, A. C.; SANTA'ANA, A. E.; PLETSCHE, M.; Coelho, L.C. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia*. **Bioresource technology**, v. 95, p. 229-233, 2004.

ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: polyphenoloxidase in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, v. 24, n. 1, p. 1-15, 1949.

AYRES, M. C. C.; BRANDÃO, M. S.; VIEIRA-JÚNIOR, G. M.; MENOR, J. C. A. S.; B. SILVA, H. B.; SOARES, M. J. S.; CHAVES, M. H. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 1, p. 90-97, 2008.

BACHHETI, R. K.; PANDEY, D.P.; JOSHI, A.; RANA, V.; RAI, I. Phytochemical analysis of aerial Parts of *Ixora paviflora*. **International Journal of Chemtech Research**, v. 3, n. 3, p. 1028-1032, 2011.

BAI, H. Y.; ZHAN, Q. F.; XIA, Z. H.; LAO, A. N. Studies on the chemical constituents in vine stem of *Bauhinia championii*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 30, n. 1, p. 42-43, 2005.

BARBOSA, J. H. P.; OLIVEIRA, S. L.; SEARA, L. T. Produtos da glicação avançada dietéticos e as complicações crônicas do diabetes. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 1, p. 113-124, 2009.

BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARNES, J. P.; PUTNAM, A. R. Role of benzoxazinones in allelopathy byrye (*Secale cereale*). **Journal of Chemical Ecology**, v. 13, p. 889-906, 1987.

BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Biodiversidade: fonte potencial para a descoberta de fármacos. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 679-688, 2009.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, E. J. M. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BECKMANN, D. V.; CARVALHO, F. B.; MAZZANTI, C. M.; DOS SANTOS, R. P.; ANDRADES, A. O.; AIELLO, G.; RIPPILINGER, A.; GRAÇA, D. L.; ABDALLA, F. H.; OLIVEIRA, L. S.; GUTIERRES, J. M.; SCHETINGER, M. R. C.; MAZZANTI, A. Neuroprotective role of quercetin in locomotor activities and cholinergic neurotransmission in rats experimentally demyelinated with ethidium bromide. **Life Sciences**, v. 103, p. 79–87, 2014.

BERNAL, F. A.; SUÁREZ, L. E. C. Chemical constituents from *Iryanthera ulei* Warb. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 37, p. 772–775, 2009.

BHARTIYA, H. P.; DUBEY, P.; KATIYAR, S. B.; GUPTA, P. C. A new chalcone glycoside from *Bauhinia purpurea*. **Phytochemistry**, v. 18, n. 4, p. 689-692, 1979.

BHARTIYA, H. P.; GUPTA, P. C. A chalcone glycoside from the seeds of *Bauhinia purpurea*. **Phytochemistry**, v. 20, n. 8, p. 2051, 1981.

BHASKAR, S.; KUMAR, K. S.; KRISHNAN, K. ; ANTONY, H. Quercetin alleviates hypercholesterolemic diet induced inflammation during progression and regression of atherosclerosis in rabbits. **Nutrition**, v. 29, p. 219–229, 2013.

BIANCO, E. M.; SANTOS, C. A. M. Substâncias isoladas das folhas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (Caesalpinaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 13, n. 2, p. 93-99, 2003.

BIESKI, I. G. C.; SANTOS, F. R.; OLIVEIRA, R. M.; ESPINOSA, M. M.; MACEDO, M.; ALBUQUERQUE, U. P.; MARTINS, D. T. O. Ethnopharmacology of Medicinal Plants of the Pantanal Region (Mato Grosso, Brazil). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-36, 2012.

BIRT, D. F.; HENDRICH, S.; WANG, W. DIETARY AGENTS IN CANCER PREVENTION: Flavonoids and isoflavonoids. **Pharmacology Therapeutics**. v. 90, p. 157-177, 2001.

BLAINSKI, A.; LOPES, G. C.; MELLO, J. C. P. Application and Analysis of the Folin Ciocalteu Method for the Determination of the Total Phenolic Content from *Limonium Brasiliense* L. **Molecules**, n. 18, p. 6852-6865, 2013.

BODAKHE, S. H.; RAM, A. Hepatoprotective properties of *Bauhinia variegata* Bark Extract. **Yakugaku Zasshi**, v. 127, n. 9, p. 1503-1507, 2007.

BOONPHONG, S.; PUANGSOMBAT, P.; BARAMEE, A.; MAHIDOL, C.; RUCHIRAWAT, S.; KITTAKOOP, P. Bioactive Compounds from *Bauhinia purpurea* Possessing Antimalarial, Antimycobacterial, Antifungal, Anti-inflammatory, and Cytotoxic Activities. **Journal of natural products**, v. 70, p. 795-801, 2007.

BOOTS, A. W.; WILMS, L. C.; SWENNEN, E. L. R.; KLEINJANS, J. C. S.; BAST, A.; HAENEN, G. R. M. M. In vitro and ex vivo anti-inflammatory activity of quercetin in healthy volunteers. **Nutrition**, v. 24, p. 703–710, 2008.

BORSKA, S.; CHMIELEWSKA, M.; WYSOCKA, T.; DRAG-ZALESINSKA, M.; ZABEL, M.; DZIEGIEL, P. In vitro effect of quercetin on human gastric carcinoma: Targeting cancer cells death and MDR. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 3375–3383, 2012.

BOUFADI, Y. M.; SOUBHYE, J.; RIAZI, A.; ROUSSEAU, A.; VANHAEVERBEEK, M.; NÈVE, J.; BOUDJELTIA, K. Z.; ANTWERPEN, P. V. Characterization and Antioxidant Properties of Six Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. **International journal of molecular sciences**, v.15, p. 2327-2345, 2014.

BRACA, A.; DE TOMMASI, N.; DI BARI, L.; PIZZA, C.; POLITI, M.; MORELLI, I. Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. **Journal of natural products**, v. 64, p. 892–895, 2001.

BRADLEY, P. P.; PRIEBAT, D. A.; CHRISTENSEN, R. D.; ROTHSTEIN, G. Measurement of cutaneous inflammation: estimation of neutrophil content with an enzyme marker. **Journal Investigative of Dermatology**, v. 78, p. 206-209, 1982.

BRAGA, T. V.; OLIVEIRA, T. T.; PINTO, J. T.; DORES, R. G. R.; NAGEM, T. J. Determinação de massa fresca, massa seca, água e cinzas totais de folhas de *Cissus verticillata* (L.) e avaliação do processo de secagem em estufa com ventilação forçada. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 28, n. 3, p. 287-290, 2007.

BRANCALION, A. P. S.; OLIVEIRA, R. B.; SOUSA, J. P. B.; GROPPPO, M.; BERRETTA, A. A.; BARROS, M. E.; BOIM, M. A.; BASTOS, J. K. Effect of hydroalcoholic extract from *Copaifera langsdorffii* leaves on urolithiasis induced in rats. **Urological Research**, v. 40, p. 475–481, 2012.

BRANDÃO, H. N.; DAVID, J. P.; COUTO, R. D.; NASCIMENTO, J. A. P.; DAVID, J. M. Química e farmacologia de quimioterápicos antineoplásicos derivados de plantas. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1359-1369, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Departamento Nacional de Defesa Vegetal. Coordenação de Laboratório Vegetal. **Regras para análise de sementes**. Brasília, DF, 2009. 365 p.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira, volume 1**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 546p. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/cd_farmacopeia/index.htm> Acesso em: 03/02/2011.

BRAZ FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. **Química. Nova**, v. 33, n. 1, 2010.

BRIHEIM, G.; STENDAHL, O.; DAHLGREN, C. Intra- and extracellular events in luminol-dependent chemiluminescence of polymorphonuclear leukocytes. **Infection and Immunity**, v. 45, p. 1-5, 1984.

BURDA, S.; OLESZEK, W. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 49, n. 6, p. 2774–2779, 2001.

CAI, Y.; CHEN, T.; XU, Q. J. Astilbin suppresses delayed-type hypersensitivity by inhibiting lymphocyte migration. **Journal of pharmaceutics & pharmacology**, v. 55, n. 5, p. 691-696, 2003a.

CAI, Y.; CHEN, T.; XU, Q. J. Astilbin suppresses collagen-induced arthritis via the dysfunction of lymphocytes. **Inflammation research**, 52, n. 8, p. 334-340, 2003b.

CALDERÓN-MONTAÑO, J.M.; BURGOS-MORÓN, E.; PÉREZ-GUERRERO, C.; LÓPEZ-LÁZARO, M. A Review on the Dietary Flavonoid Kaempferol. **Mini-Reviews in Medicinal Chemistry**, v. 11, p. 298-344, 2011.

CAMERON, T. S.; ROE, S. P. Racemosol: a novel tetracyclic phenol from *Bauhinia racemosa* Lamx. **Tetrahedron**, v. 42, n. 9, p. 2417- 2420, 1986.

CARDOSO, C. A. L.; COELHO, R. G.; HONDA, N. K.; POTT, A.; PAVAN, F. R.; LEITE, C. Q. F. Phenolic compounds and antioxidant, antimicrobial and antimycobacterial activities of *Serjania erecta* Radlk. (Sapindaceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n.4, 2013.

CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botânica Brasileira**, v. 21, n. 3, 2007.

CARNEIRO, E.; CALIXTO, J. B.; DELLE MONACHE, F.; YUNES, R. A. Isolation, chemical identification and pharmacological evaluation of eucryphin, astilbin and engelitin obtained from the bark of *Hymenaea martiana*. **International Journal of Pharmacognosy**, v. 31, n. 1, p. 38–46, 1993.

CARVALHO, J. C. T.; SANTOS, L. S.; VIANA, E. P. Anti-inflammatory and analgesic activities of the crude extracts from stem bark of *Bauhinia guianensis*. **Pharmaceutical biology**, v. 37, p. 281–284, 1999.

CAVALCANTE, M. F.; OLIVEIRA, M. C. C; VELANDIA, J. R.; ECHEVARRIA, A. Síntese de 1,3,5-triazinas substituídas e avaliação da toxicidade frente a *Artemia Salina* leach. **Química Nova**, v. 23, n.1, p. 20-22, 2000.

CECHINEL FILHO, V.; BREVIGLIERI, E.; WILLAIN FILHO, A., SANTOS, A. R. S. Estudo fitoquímico e avaliação preliminar da atividade analgésica de *Bauhinia splendens*. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 76, p. 115-117, 1995.

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. **Química Nova**, v. 21, p. 99–105, 1998.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanço e perspectivas na área de produtos naturais ativos: Estudos desenvolvidos no NIQFAR/UNIVALI. **Química Nova**, v. 23, n. 5, p. 680-685, 2000.

CECHINEL FILHO, V. Chemical Composition and Biological Potential of Plants from the Genus *Bauhinia*. **Phytotherapy Research**, v. 23, p. 1347-1354, 2009

CHAPPELLE, E. W.; KIM, M. S. Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): na algorithm for a remote estimation of the concentrations of chlorophyll A, chlorophyll B, and carotenoids in soybean leaves. **Remote Sensing of Environment**, New York, v. 39, p. 239- 247, 1992.

CHATURVEDI, P.; PIPEDI-TSHEKISO, M.; MOSEKI, B.; KWAPE, T. E. Hepatoprotective potentials of water extract of *Bauhinia purpurea* bark against alcohol induced toxicity. **Scientific Research and Essays**, v. 6, n. 20, p. 4347-4353, 2011.

CHEN, C. C.; CHEN, Y. P.; HSU, H. Y.; CHEN, Y. L. New flavones from *Bauhinia championii* Benth. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 32, n. 1, p. 166-169, 1984.

CHEN, C. C.; HUANG, Y. L.; OU, J. C. Constituents of the stem of *Bauhinia championii*. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 46, n. 6, p. 485-489, 1994.

CHEN, Y. F.; TSAI, H. Y.; WU, T. S. Anti-inflammatory and analgesic activities from root of *Angelica pubescens*. **Planta Med.**, v. 61, p. 2-8, 1995.

CHEN, T. ; LI, J.; CAO, J.; XU, Q.; KOMATSU, K.; NAMBA, T. A new flavanone isolated from rhizoma *Smilacis glabrae* and the structural requirements of its derivatives for preventing immunological hepatocyte damage. **Planta Medica**, v. 65 p. 56–59, 1999.

CHEN, L.; YIN, Y.; YI, H.; XU, Q.; CHEN, T. Simultaneous quantification of five major bioactive flavonoids in *Rhizoma Smilacis Glabrae* by high-performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 43, p. 1715–1720, 2007.

CHEN, L.; LAN, Z.; ZHOU, Y.; LI, F.; ZHANG, X.; ZHANG, C.; YANG, Z.; LI, P. Astilbin Attenuates Hyperuricemia and Ameliorates Nephropathy in Fructose-Induced Hyperuricemic Rats. **Planta Medica**, v. 77, p. 1769–1773, 2011a.

CHEN, L.; YIN, H.; LAN, Z.; MA, S.; ZHANG, C.; YANG, Z.; LI, P.; LIN, B. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of *Smilax china* L. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 135, p. 399–405, 2011b.

CHEN, J. Y.; CHAN, H. L.; CHOU, H. C. Proteomic analysis of quercetin-induced cardioprotective effects. **Genomic Medicine, Biomarkers, and Health Sciences**, v. 4, p. 51-53, 2012.

CHEW, Y. L.; CHAN, E. W. L.; TAN, P. L.; LIM, Y. Y.; STANSLAS, J.; GOH, J. K. Assessment of phytochemical content, polyphenolic composition, antioxidant and antibacterial activities of Leguminosae medicinal plants in Peninsular Malaysia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 11, n. 12, 2011.

CHOE, K. I.; KWON, J. H.; PARK, K. H.; OH, M. H.; KIM, M. H.; KIM, H. H.; CHO, S. H.; CHUNG, E. K.; HA, S. Y.; LEE, M. W. The Antioxidant and Anti-inflammatory Effects of Phenolic Compounds Isolated from the Root of *Rhodiola sachalinensis* A. BOR. **Molecules**, v. 17, p. 11484-11494, 2012.

CHOI, G. N.; KIM, J. H.; KWAK, J. H.; JEONG, C. H.; JEONG, H. R.; LEE, U.; HEO, H. J. Effect of quercetin on learning and memory performance in ICR mice under neurotoxic trimethyltin exposure. **Food Chemistry**, v. 132, p. 1019–1024, 2012.

CHON, S. U.; COUTTS, J. H.; NELSON, C. J. Effects of light, growth media and seedling orientation on bioassays of alfaa autotoxicity. **Agronomy Journal**, v. 92, p. 715-720, 2000.

CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v.18, n. 5, p. 609-630, 1999.

CHUNG, I. M.; AHN, L. K.; YUN, S. J. Assesment of allelopathic potential of barnyard grass (*Echinochloa crus-gall*) on rice (*Oriza sativa* L.) cultivars. **Crop Protection**, v. 20, p. 921-928, 2001.

CINTRA, P.; MALASPINA, O.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v.13, n.1, p.115-118, 2002.

COLLIER, H. O.; DINNEEN, L. C.; JOHNSON, C. A.; SCHNEIDER, C. The abdominal constriction response and its suppression by analgesic drugs in the mouse. **British journal of pharmacology and chemotherapy**, v. 32, p. 295-310, 1968.

COMPAORÉ, M.; LAMIEN, C. E.; LAMIEN-MEDA, A.; VLASE, L.; KIENDREBEOGO, M.; IONESCU, C.; NACOULMA, O. G. Antioxidant, xanthine oxidase and lipoxygenase inhibitory activities and phenolics of *Bauhinia rufescens* Lam. (Caesalpinaceae). **Natural Product Research**, v. 26, n. 11, p. 1069-1074, 2012.

CORRÊA, M.P. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, v. 3, 1952.

COSTA-LOTUFO, L. V.; MONTENEGRO, R. C.; ALVES, A. P. N. N., MADEIRA, S. V. F.; PESSOA, C.; MORAES, M. E. A.; MORAES, M. O. A Contribuição dos Produtos Naturais como Fonte de Novos Fármacos Anticâncer: Estudos no Laboratório Nacional de Oncologia Experimental da Universidade Federal do Ceará. **Revista Virtual de Química**, v. 2, n. 1, p. 47-58, 2010.

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

DA CUNHA, A. M.; MENON, S.; MENON, R.; COUTO, A. G.; BURGER, C.; BIAVATTI, M. W. Hypoglycemic activity of dried extracts of *Bauhinia forficata* Link. **Phytomedicine**, v. 17, p. 37–41, 2010.

DA SILVA, V. C.; ALVES, A. N.; SANTANA, A.; CARVALHO, M. G. Constituintes fenólicos e terpenóides isolados das raízes de *Andira fraxinifolia* (FABACEAE). **Química Nova**, v. 29, n. 6, p. 1184-1186, 2006.

DA SILVA, V. C.; CARVALHO, M. G.; SILVA, S. L. C. CHEMICAL CONSTITUENTS FROM ROOTS OF *Andira anthelmia* (LEGUMINOSAE). **Revista Latinoamericana de Química**, v. 35, n. 1, p.13-19, 2007.

DA SILVA, J. P. A.; SAMPAIO, L. S.; OLIVEIRA, L. S.; REIS, L. A. Plantas medicinais utilizadas por portadores de diabetes mellitus tipo 2 para provável controle glicêmico no município de Jequié-BA. **Revista de Saúde Comunitária**, v. 4, n. 1, p. 10-18, 2008.

DA SILVA, M. A. B.; MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

DAJAS, F. Life or death: Neuroprotective and anticancer effects of quercetin. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 143, p. 383–396, 2012.

DALL' AGNOL, R.; FERRAZ, A.; BERNARDI, A. P.; ALBRING, D.; NÖR, C.; SARMENTO, L.; LAMB, L.; HASS, M.; VON POSER, G.; SCHAPOVAL, E. E. S. Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. **Phytomedicine**, v. 10, p. 511-516, 2003.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; CALDERON, I. M. P.; AGUILAR, R.; RUDGE, M. V. C. Effect of *Bauhinia forficata* extract in diabetic pregnant rats: maternal repercussions. **Phytomedicine**, v. 11, p. 196–201, 2004.

DANIEL, A. N.; SARTORETTO, S. M.; SCHMIDT, G.; CAPARROZ-ASSEF, S. M.; BERSANI-AMADO, C. A.; CUMAN, R. K. N. Anti-inflammatory and antinociceptive activities A of eugenol essential oil in experimental animal models. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 1b, p. 212-217, 2009.

DAS, S. N.; JAGANNATH, P.V.; DINDA, S. C. Evaluation of Anti-Inflammatory, Anti-diabetic activity of Indian *Bauhinia vahlii* (stembark) **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. 1382-1387, 2012.

DAWN-LINSLEY, M.; EKINCI, F. J.; ORTIZ, D.; ROGERS, E.; SHEA, T. B. Monitoring thiobarbituric acid-reactive substances (TBARs) as an assay for oxidative damage in neuronal cultures and central nervous system. **Journal of Neurosciences Method**, v. 141, n. 2, p. 219-222, 2005.

DE SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.; PIZZOLATTI, M. G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F. R. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-O-(alpha)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of natural products**, v. 67, n. 5, p. 829-832, 2004.

DE YOUNG, L. M.; KHEIFETS, J. B.; BALLARON, S. J.; YOUNG, J. M. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents & Actions**, v. 26, p. 335-341, 1989.

DELEO, F. R.; DIEP, B. A.; OTTO, M. Host Defense and Pathogenesis in *Staphylococcus aureus* Infections. **Journal of Infectious Disease Clinics of North America**, v. 23, n. 1, p. 17-34, 2009.

DEWANGAN, P.; VERMA, A.; KESHARWANI, D. Isolation of D-Pinitol: A Bioactive Carbohydrate from the Leaves of *Bauhinia variegata* L. **International journal of pharmaceutical sciences review and research**, v. 24 (1), n. 8, p. 43-45, 2014.

DI ROSA, M.; GIROUD, J. P.; WILLOUGHBY, D.A. Studies of the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. **Journal of Pathology**, v. 104, p. 15-29, 1971.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica. 2ª ed. São Paulo: Editora UNESP, 2002. 605p.

DIANTINI, A.; SUBARNAS, A.; LESTARI, K.; HALIMAH, E.; SUSILAWATI, Y.; SUPRIYATNA; JULAEHA, E.; ACHMAD, T. H.; SURADJI, E. W.; YAMAZAKI, C.; KOBAYASHI, K.; KOYAMA, H.; ABDULAH, R. Kaempferol-3-O-rhamnoside isolated from the leaves of *Schima wallichii* Korth. inhibits MCF-7 breast cancer cell proliferation

through activation of the caspase cascade pathway. **Oncology letters**, v. 3, p. 1069-1072, 2012.

DIAO, H.; KANG, Z.; HAN, FAN; JIANG, W. Astilbin protects diabetic rat heart against ischemia–reperfusion injury via blockade of HMGB1-dependent NF- κ B signaling pathway. **Food and Chemical Toxicology**, v. 63, p.104–110, 2014.

DIAS, J. F. G. **Fitoquímica e ensaios biológicos do extrato bruto etanólico, frações e substâncias isoladas provenientes das cascas de *Geissospermum vellosii* Allemão**, (APOCYNACEAE). 135 f. Tese (doutorado em ciências farmacêuticas) Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2012.

DODDA, D.; CHHAJED, R.; MISHRA, J. Protective effect of quercetin against acetic acid induced inflammatory bowel disease (IBD) like symptoms in rats: Possible morphological and biochemical alterations. **Pharmacological Reports**, v. 66, p. 169–173, 2014.

DOS SANTOS, F. J. B.; LIMA, S. G.; CERQUEIRA, G. S.; CITÓ, A. M. G. L.; CAVALCANTE, A. M. C. M.; MARQUES, T. H. C.; FREITAS, R. M. Chemical composition and anxiolytic-like effects of the *Bauhinia platypetala*. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 22, n. 3, p. 507-516, 2012.

DOS SANTOS, A. E.; KUSTER, R. M.; YAMAMOTO, K. A.; SALLES, T. S.; CAMPOS, R.; DE MENESES, M. D.; SOARES, M. R.; FERREIRA, D. Quercetin and quercetin 3-O-glycosides from *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steud. show anti-Mayaro virus activity. **Parasits & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 130, 2014a.

DOS SANTOS, P. M.; ALMEIDA, P. D. O.; LIMA, E. S.; MORAES, M. O.; COSTA, P. M.; MEIRA, A. S.; Ó PESSOA, C.; VALENTE, L. M. M.; VEIGA JUNIOR, V. F. Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de *Bauhinia purpurea* (Fabaceae) da região amazônica. **Química Nova**, v.37, n.1, p. 89-94, 2014b.

DU, Q.; LI, L.; JERZ, G.; Purification of astilbin and isoastilbin in the extract of *Smilax glabra* rhizome by high-speed counter-current chromatography. **Journal of Chromatography**, v. 1077, p. 98-101, 2005.

DUGASANI, S.; BALIJEPALLI, M. K.; TANDRA, S.; PICHKA, M. R. Antimicrobial activity of *Bauhinia tomentosa* and *Bauhinia vahlii* roots. **Pharmacognosy magazine**; v. 6, p. 204-207, 2010.

DURET, S.; PARIS, R. R. The flavonoids os several species of *Bauhinia vahlii*. **Plant Phytotherapy research**, v. 11, p. 231, 1977.

DÜSMAN, E.; ALMEIDA, I. V.; COELHO, A. C.; BALBI, T. J.; TONIN, L. T. D ; VICENTINI, V. E. P. Antimutagenic Effect of Medicinal Plants *Achillea millefolium* and *Bauhinia forficata* *In Vivo*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013.

DUTRA, R. C.; TAVARES, C. A.; FERRAZ, S. O.; SOUSA, O. V.; PIMENTA, D. S. Investigação das atividades analgésica e antiinflamatória do extrato metanólico dos rizomas de *Echinodorus grandiflorus*. **Revista Brasileira de Farmacognosia.**, v. 16, n. 4, p. 469-474 2006.

DUTRA, V. F.; GARCIA, F. C. P.; LIMA, H. C. Caesalpinioideae (Leguminosae) nos Campos Rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, MG, Brasil. **Acta botânica. Brasília**, n. 22, v. 2, p. 547-558, 2008.

DUTRA, V. F.; VIEIRA, M. F.; GARCIA, F. C. P.; LIMA, H. C. Fenologia reprodutiva, síndromes de polinização e dispersão em espécies de leguminosae dos campos rupestres do parque estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 2, n. 60, p. 371-387, 2009.

EL-DONDAITY, S. E.; MAHDY, M.; EL-HAMOULY, M.; AMMAR, H. Chemical and/or biological studies of *Bauhinia variegata* L. and *Cleome droserifolia* (Forssk.) Del. Growing in Egypt. **Egyptian Journal of Biomedical Sciences**, v. 19, n. 10, p. 181-203, 2005.

EL-HOSSARY, G. A.; SELIM, M. A.; EL SAYED, A.; KHALEEL, A. E. Study of the flavonoid content of *Bassia muricata* L. and *Bauhinia racemosa* Lam. **Bulletin of the Faculty of Pharmacy**, v. 38, n. 2, p. 93-97, 2000.

ENGEL, I. C.; FERREIRA, R. A. ; CECHINEL FILHO, V.; SILVA, C. M. Controle de qualidade de drogas vegetais a base de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, p. 258-264, 2008.

ESTRADA, O.; HASEGAWA, M.; GONZALEZ-MUJÍCA, F.; MOTTA, N.; PERDOMO, E.; SOLORZANO, A.; MÉNDEZ, J.; MÉNDEZ, B.; ZEA, E. Evaluation of Flavonoids from *Bauhinia megalandra* Leaves as Inhibitors of Glucose-6-Phosphatase System. **Phytotherapy research**, v. 19, p. 859–863, 2005.

ESTRADA, O.; CASTILLO, C. A.; FERNÁNDEZ, A.; LÓPEZ, M.; VECCHIONE, E. R.; VÁZQUEZ, J.; MÉNDEZ, J.; CONDE, D.; CARDOZO, A. Pomolic Acid Isolated from the leaves of *Licania pittieri* inhibits ADP and epinephrine-Induced platelet aggregation and has hypotensive effect on rats. **Current bioactive compounds**, v. 5, p. 219-225, 2009.

EU, J. P.; LIU, L.; ZENG, M.; STAMLER, J. S. An apoptotic model for nitrosative stress. **Biochemistry**, v. 39, n. 5, p. 1040–1047, 2000.

FALKENBERG, M. B.; SANTOS, R. I.; SIMÕES, C. M. O. Introdução a análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 230-245.

FANG, E. F.; BAH, C. S.; WONG, J. H.; PAN, W. L.; CHAN, Y. S.; YE, X. J.; NG, T. B. A potential human hepatocellular carcinoma inhibitor from *Bauhinia purpurea* L. seeds: from purification to mechanism exploration. **Archives of Toxicology**, v. 86, n. 2, p. 293-304, 2012.

FANZONE, M.; PEN-NEIRA, A.; JOFRE, V.; ASSOF, M.; ZAMORA, F. Phenolic Characterization of Malbec Wines from Mendoza Province (Argentina). **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, p. 2388–2397, 2010.

FARIAS, M. R. Avaliação da qualidade de matérias primas vegetais. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 263-288.

FEI, M.; WU, X.; XU, Q. Astilbin inhibits contact hypersensitivity through negative cytokine regulation distinct from cyclosporin A. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 116, n. 6, p. 1350–1356, 2005.

FEIJÓ, A. M.; BUENO, M. E. N.; CEOLIN, T.; LINCK, C. L.; SCHWARTZ, E.; LANGE, C.; MEINCKE, S. M. K.; HECK, R. M.; BARBIERI, R. L.; HEIDEN, G. Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de *Diabetes mellitus* no tratamento dos sintomas da doença. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 14, n.1, p. 50-56, 2012.

FERREIRA, A. G.; AQUILA, M. E. A. Alelopatia: uma área emergente da ecofisiologia. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 12, p. 175-204, 2000.

FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.

FIGUEIRA, A. C. G.; BRITO, A. F.; SILVA, G. A Avaliação da toxicidade de plantas medicinais brasileiras por meio do bioensaio com *Artemia salina*. **Jornada de Pesquisa e Iniciação Científica**, v. 3, n. 3, 2012.

FLORA DO BRASIL. Distribuição geográfica da espécie *Bauhinia unguolata* L. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2014>>. Acesso em: 01/01/2014.

FORD, J. L.; TIMMINS, P. Pharmaceutical Thermal Analysis: Techniques and applications. **John Wiley & Sons**, p. 108-309, 1989.

FORMICA, J. V.; REGELSON, W. Review of the biology of Quercetin and related bioflavonoids. **Food and chemical toxicology**, v. 33, n. 12, p. 1061-80, 1995.

FORTE, W. C. N.; GONZALES, C. C. L.; CARIGNANI, S.; MIMICA, I. Avaliação de neutrófilos na desnutrição moderada. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 45, p. 147-151, 1999.

FRACASSO, J. F.; NUNES-DE-SOUZA, R. L.; TEIXEIRA, C. E.; CASTRO, R. C.; LEPERA, E. Z. P.; SILVA, R. F. P. Effect of dipyrone, L-name and Larginine on endotoxin-induced rat paw edema. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 29, n. 11, p. 1543-1548, 1996.

FREITAS, G. C.; CARREGARO, A. B. Aplicabilidade da extrapolação alométrica em protocolos terapêuticos para animais selvagens. **Ciência Rural**, v. 43, n. 2, p. 297-304, 2013.

FUENTES, O.; ARANCIBIA-AVILA, P.; ALARCÓN, J. Hypoglycemic activity of *Bauhinia candicans* in diabetic induced rabbits. **Fitoterapia**, v. 75, p. 527–532, 2004.

FUENTES, O.; ALARCÓN, J. *Bauhinia candicans* stimulation of glucose uptake in isolated gastric glands of normal and diabetic rabbits. **Fitoterapia**, v. 77, p. 271–275, 2006.

GADOTTI, V. M.; SCHMELING, L. O.; MACHADO, C.; LIZ, F. H.; FILHO, V. C.; MEYRE-SILVA, C.; SANTOS, A. R. Antinociceptive action of the extract and the flavonoid quercitrin isolated from *Bauhinia microstachya* leaves. **Journal of pharmaceuticals & pharmacology**, v. 57, n. 10, p. 1345-51, 2005.

GALOTTA, A. L. Q. A.; BOAVENTURA, M. A. D.; LIMA, L. A. R. S. Antioxidant and cytotoxic activities of 'açai' (*Euterpe precatoria* Mart.). **Química Nova**, v. 31, n. 6, p. 1427-1430, 2008.

GALVÃO, S. M. P.; MENDES, F. R.; OLIVEIRA, M. G. M.; MATTEI, R.; MELLO, J. C. P.; ROMAN JÚNIOR, W. A.; CARLINI, E. A. Memory retrieval improvement by *Heteropterys aphrodisiaca* in aging rats. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 4, p. 825-832, 2011.

GANDHI, V.M.; CHERIAN, K.M. Red cell haemolysis test as an *in vitro* approach for the assessment of toxicity of karanja oil. **Toxicology In Vitro**, v. 14, p. 513-516, 2000.

GATTI, A. B.; PEREZ, S. C. J. G.; LIMA, M. I. S. Efeito alelopático de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze na germinação e no crescimento de *Lactuca sativa* L. e *Raphanus sativus* L. **Acta Botanica Brasílica**, v. 18, n. 3, p. 459-472, 2004.

GAUTAM, B.; VADIVEL, V.; STUETZ, W.; BIESALSKI, H. K. Bioactive compounds extracted from Indian wild legume seeds: antioxidant and type II diabetes-related enzyme inhibition properties. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 63, n. 2, p. 242-245, 2012.

GIASSON B. I.; ISCHIROPOULOS, H.; LEE, V. M.; TROJANOWSKI, J. Q. The relationship between oxidative/nitrative stress and pathological inclusions in Alzheimer's and Parkinson's diseases. **Free radical biology & medicine**, v. 32, n. 12, p. 1264-1275, 2002.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólicos secundários. **Química Nova**, v. 30, p. 374–381, 2007.

GÓIS, R. W. S.; SOUSA, L. M.; SANTIAGO, G. M. P.; ROMERO, N. R.; LEMOS, T. L. G.; ARRIAGA, A. M. C.; BRAZ-FILHO, R. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* of pacharin from *Bauhinia acuruana*. **Parasitology research**, v. 112, p. 2753–2757, 2013.

GONÇALVES, A. L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Árvores medicinais nativas com potencial para extrativismo autossustentável - atividade antimicrobiana. **International Publisher of Science, Technology and Medicine**, v. 6, n. 2, p. 114 – 120, 2013.

GONZALEZ-MUJICA, F.; MOTTA, N.; ESTRADA, O.; PERDOMO, E.; MÉNDEZ, J.; HASEGAWA M. Inhibition of hepatic neoglucogenesis and glucose-6-phosphatase by quercetin 3-O-alpha(2"- galloyl)rhamnoside isolated from *Bauhinia megalandra* leaves. **Phytotherapy research**, v. 19, p. 624–627, 2005.

GORLA, C.M.; PEREZ, S.C.J.G.A. Influência de extratos aquosos de folhas de *Miconia albicans* Triana, *Lantana camara* L., *Leucaena leucocephala* (Lam) de Wit e *Drimys winteri* Forst, na germinação e crescimento inicial de sementes de tomate e pepino. **Revista Brasileira de Sementes**, v.19, n.2, p.260-265, 1997.

GOTTLIEB, O. R.; BORIN, M. R. M. B. Quimiosistemática como ferramenta na busca de substâncias ativas. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 91-105.

GUEBAILIA, A. H.; CHIRA, K.; RICHARD, T.; MABROUK, T.; FURIGA, A.; VITRAC, X.; MONTI, J .P.; DELAUNAY, J. C.; MEË RILLON, J. M. Hopeaphenol: The First Resveratrol Tetramer in Wines from North Africa. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 54, p. 9559-9564, 2006.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade, Fitoterápicos e Fitofármacos. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 13-28.

GUO, H.; KOIKE, K.; LI, W.; GUO, D.; NIKAIDO, T. Maltol glucosides from the tuber of *Smilax bockii*. **Phytochemistry**, v. 65, p. 481–484, 2004.

GUO, J.; QIAN, F.; LI, J.; XU, Q.; CHEN, T. Identification of a new metabolite of astilbin, 3'-O-methylastilbin, and its immunosuppressive activity against contact dermatitis. **Clinical Chemistry**, v. 53, n. 5, p. 997, 2007.

GUPTA, M.; MAZUMDER, U. K.; KUMAR, R. S.; KUMAR, T. Silva. Antitumor activity and antioxidant role of *Bauhinia racemosa* against Ehrlich ascites carcinoma in Swiss albino mice¹ Malaya. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 25, n. 8, p. 1070-1076, 2004.

GUPTA, M.; MAZUMDER, U. K.; KUMAR, R. S.; GOMATHI, P.; RAJESHWAR, Y.; KAKOTI, B. B.; SELVEN, V. T. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effects of methanol extract from *Bauhinia racemosa* stem bark in animal models. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 267–273, 2005.

HA, S.Y.; YOUN, H.; SONG, C. S.; KANG, S. C.; BA, J. J.; KIM, H. T.; LEE, K. M.; EOM, T. H.; KIM, I. S.; KWAK, J. H. Antiviral Effect of Flavonol Glycosides Isolated from the Leaf of *Zanthoxylum piperitum* on Influenza Virus. **Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 340–344, 2014.

HARAGUCHI, H.; MOCHIDA, Y.; SAKAI, S.; MASUDA, H.; TAMURA, Y.; MIZUTANI, K. Protection against oxidative damage by dihydroflavonols in *Engelhardtia chrysolepis*. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 60, n. 6, p. 945–948, 1996.

HAZRA, A. G.; CHATTERJEE, P. A nontoxic antitumour compound from the leaves of *Bauhinia scandens* characterized as 1-*O*-alkyl glycerol by gas–liquid chromatography and evaluation of its antitumour property by Brine Shrimp bioassay. **Industrial Crops and Products**, n. 27, n. 1, p. 39-43, 2008.

HEIM, E. K.; TAGLIAFERRO, R. A.; BOBILYA, J. D. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 13, n.1, p. 572-584, 2002.

HELTON, W. B.; CHOI, E. Y.; GAIROLA, C. G.; VALENTINO, J.; SWANSON, H. Apigenin and Kaempferol Effects on Oral Cancer FADU Cells. **Otolaryngology-Head and Neck Surgery**, v. 139, n. 2S1, p. 180, 2008.

HISAM, E. E.; ZAKARIA, Z. A.; MOHTARUDDIN, N.; ROFIEE, M. S.; HAMID, H. A.; OTHMAN, F. Antiulcer activity of the chloroform extract of *Bauhinia purpurea* leaf. **Pharmaceutical biology**, v. 50, n. 12, p. 1498-507, 2012.

HOU, Y.; ZENG, Y.; LI, S.; QI, L.; XU, W.; WANG, H.; ZHAO, X.; SUN, C. Effect of quercetin against dichlorvos induced nephrotoxicity in rats. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 66, p. 211–218, 2014.

HUANG, H.; CHENG, Z.; SHI, H.; XIN, W.; WANG, T. T.; YU, L. L. Isolation and characterization of two flavonoids, engeletin and astilbin, from the leaves of *Engelhardia roxburghiana* and their potential anti-inflammatory properties. **Journal of agricultural and food chemistry**, n. 59, v. 09, p. 4562-9, 2011a.

HUANG, J., WANG, S., ZHU, M.; CHEN, J., ZHU, X. Effects of Genistein, Apigenin, Quercetin, Rutin and Astilbin on serum uric acid levels and xanthine oxidase activities in normal and hyperuricemic mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 1943-1947, 2011b.

HUNSKAAR, S.; FASMER, O.B.; HOLE, K. Formalin test in mice, a useful technique for evaluating mild analgesics. **Journal of neuroscience methods**, v.14, p. 69-76, 1985.

HUNSKAAR, S; HOLE, K. The formalin test in mice: dissociation between inflammatory and non-inflammatory pain. **Pain**, v. 30, p. 103-114, 1987.

INAL, M. E.; KAHRAMAN, A. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. **Toxicology**, v. 154, p. 21-29, 2000.

INNGJERDINGEN, K.; NERGARD, C. S.; DIALLO, D.; MOUNKORO, P. P.; PAULSEN, B. S. An ethnopharmacological survey of plants used for wound healing in Dogonland, Mali, West Africa. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 233–244, 2004.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Components of *Bauhinia candicans*. **Journal of Natural Product**, v. 46, n. 5, p. 752-753, 1983.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Sitosterol-3-O- α -riburonofuranoside from *Bauhinia candicans*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 2, p. 360-361, 1985.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Sitosterol 3-O- α -D-xylopyranoside from *Bauhinia candicans*. **Phytochemistry**, v. 26, n. 3, p. 857-858, 1987.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Steroidal glycosides, flavonoids, and other components of *Bauhinia uruguayensis*. **Anales de la Asociación Química Argentina**, v. 77, n. 4, p. 461- 466, 1989.

ISLAM, R.; ZAMAN, A.; JAHAN, I.; CHAKRAVORTY, R.; CHAKRABORTY, S. In silico QSAR analysis of quercetin reveals its potential as therapeutic drug for Alzheimer's disease. **Journal of Young Pharmacists**, v. 5, p. 173-179, 2013.

JAIN, S.; SRIVASTAVA, B. K. Flavonoids from the seedcoat of *Bauhinia racemosa*. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 17, n. 3, p. 521-522, 2001.

JAIN, R.; ALAM, S.; SAXENA, U. A new tetracyclic phenol and other constituents from the roots of *Bauhinia racemosa*. **Indian Journal of Chemistry**, v. 41B, p. 1321-1322, 2002a.

JAIN, K. S.; PATHAK, V.; SRIVASTAVA, B. K. Characterization of flavonoids from seed coat of *Bauhinia racemosa*. **Asian Journal of Chemistry**, v. 14, n. 2, p. 1067-1068, 2002b.

JAIN, R.; SAXENA, U.; RATHORE, K.; JAIN, S. C. Bioactivities of Polyphenolics from the Roots of *Bauhinia racemosa*. **Archives of pharmacal research**, v. 31, n. 12, p. 1525-1529, 2008.

JAIN R., YADAV, N.; BHAGCHANDANI, T.; JAIN, S. C. A new pentacyclic phenol and other constituents from the root bark of *Bauhinia racemosa* Lamk. **Natural Product Reserach**, v. 20, p. 1870-1876, 2013.

JEYADEVIA, R.; SIVASUDHAA, T.; RAMESHKUMARA, A.; ANANTHA, D. A.; ASEERVATHAMA, G. S. B.; KUMARESANC, K.; KUMARD, L. D.; JAGADEESWARIE, S. RENGANATHAN, R. Enhancement of anti arthritic effect of quercetin using thioglycolic acid-capped cadmium telluride quantum dots as nanocarrier in adjuvant induced arthritic Wistar rats. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 112, p. 255-263, 2013.

JOLY, A. B. Botânica, introdução à taxonomia vegetal. 7.ed. São Paulo, 1985.

JOSHAN, D. S.; SINGH, S. K. Investigational study of *Juglans regia* extract and quercetin against photoaging. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 3, p. 193-200, 2013.

JOSHI, A. B.; DESAI, R. R.; BHOBE, M. P. Phytochemical investigation of the hexane extract of stem bark of *Bauhinia Purpurea* Linn. **Der Pharma Chemica**, v. 5, n. 3, p. 116-121, 2013.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. 2009. **Sistemática vegetal. Um enfoque filogenético**. 3ª ed. Artmed, Porto Alegre. 632p.

KAEWAMATAWONG, R.; KITAJIMA, M.; KOGURE, N.; TAKAYAMA, H. Flavonols from *Bauhinia malabarica*. **Journal of natural medicines**, v. 62, p. 364–365, 2008.

KAEWPIBOON, C.; LIRDPRAPAMONGKOL, K.; SRISOMSAP, C.; WINAYANUWATTIKUN, P.; YONGVANICH, T.; PUWAPRISIRISAN, P.; SVASTI, J.; ASSAVALAPSAKUL, W. Studies of the in vitro cytotoxic, antioxidant, lipase inhibitory and antimicrobial activities of selected Thai medicinal plants. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 12, n. 217, 2012.

KALEGARI, M.; MIGUEL, M. D.; DIAS, J. F. G.; LORDELLO, A. L. L.; DE LIMA, C. P.; MIYAZAKI, C. M. S.; ZANIN, S. M. W.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, O. G. Phytochemical constituents and preliminary toxicity evaluation of leaves from *Rourea induta* Planch. (Connaraceae). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 635-642, 2011.

KANDHARE, A. D.; RAYGUDE, K. S.; KUMAR, V. S.; RAJMANE, A. R.; VISNAGRI, A.; GHULE, A. E.; GHOSH, P.; BADOLE, S. L.; BODHANKAR, S. L. Ameliorative effects quercetin against impaired motor nerve function, inflammatory mediators and apoptosis in neonatal streptozotocin-induced diabetic neuropathy in rats. **Biomedicine & Aging Pathology**, v. 2, p. 173–186, 2012.

KANNAN, N.; GURUVAYOORAPPAN, C. Protective effect of *Bauhinia tomentosa* on acetic acid induced ulcerative colitis by regulating antioxidant and inflammatory mediators. **International Immunopharmacology**, v. 16, p. 57–66, 2013.

KETTLE, A. J.; GEDYE, C. A.; WINTERBOURN, C. C. Mechanism of inactivation of myeloperoxidase by 4-aminobenzoic acid hydrazide. **Biochemical Journal**, v. 321, p. 503–508, 1997.

KHALIL, N. M.; PEPATO, M. T.; BRUNETTI, I. L. Free Radical Scavenging Profile and Myeloperoxidase Inhibition of Extracts from Antidiabetic Plants: *Bauhinia forficata* and *Cissus sicyoides*. **Biological research**, v. 41, p. 165-171, 2008

KIMURA, Y.; SUMIYOSHI, M.; SAKANAKA, M. Effects of *Astilbe thunbergii* rhizomes on wound healing Part 1. Isolation of promotional effectors from *Astilbe thunbergii* rhizomes on burn wound healing. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 109, p. 72-77, 2007.

KITTAkoop, P.; KIRTIKARA, K.; TANTICHAROEN, M.; THEBTARANONTH, Y. Antimalarial Preracemosols A and B, possible biogenetic precursors of racemosol from *Bauhinia malabarica* Roxb. **Phytochemistry**, v. 55, n. 4, p. 349-352, 2000.

KOSTER, R.; ADERSON, M.; DEBEER, E.J. Acetic acid for analgesic screening. **Federation proceedings**, v. 18, p. 412, 1959.

KRISHNARAJUA, A. V. ; RAOA, T. V. N.; SUNDARARAJUA, D.; VANISREEB, MULABAGAL.; TSAYB, H. S.; SUBBARAJU, G. V. Assessment of Bioactivity of Indian Medicinal Plants Using Brine Shrimp (*Artemia salina*) Lethality Assay. **International Journal of Applied Science and Engineering**, v. 3, n. 2, p. 125-134, 2005.

KROYER, G.; HEGEDUS, N. Evaluation of bioactive properties of pollen extracts as functional dietary food supplement. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 2, n. 3, p. 171-174, 2001.

KUBLIK, H.; BOCK, T. K.; SCHREIER, H.; MÜLLER, B. W. Nasal absorption of 17- β estradiol from different cyclodextrin inclusion formulations in sheep. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 42, p. 320-24, 1996.

KUMAR, E. J.; KRUPADANAM, G. L. D.; SRIMANNARAYANA, G. Phenol constituents from the pods of *Bauhinia vahlii*. **Fitoterapia**, v. 61, n. 5, p. 475-476, 1990.

KUMAR, R. S.; SIVAKUMAR, T.; SUNDERAM, R. S. ; GUPTA, M.; MAZUMDAR, U. K.; GOMATHI, P.; RAJESHWAR, Y.; SARAVANAN, S.; KUMAR, M. S.; MURUGESH, K.; KUMAR, K. A. Antioxidant and antimicrobial activities of *Bauhinia racemosa* L. stem bark. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research** , v. 38, n. 7, p. 1015-1024, 2005.

KUMAR, R. S.; SUNDERAM, R. S.; SIVAKUMAR, T.; SIVAKUMAR, P.; SURESHKUMAR, R.; KANAGASABI, R.; VIJAYA, M.; PERUMAL, B. P. Effect of *Bauhinia racemosa* Stem Bark on *N*-nitrosodiethylamine-Induced Hepatocarcinogenesis in Rats. **The American Journal of Chinese Medicine**, v. 35, n. 1, p. 103–114, 2007.

KUMAR, P.; BARAIYA, S.; GAIDHANI, S. N.; GUPTA, M. D.; WANJARI, M. M. Antidiabetic activity of stem bark of *Bauhinia variegata* in alloxan-induced hyperglycemic rats. **Journal Pharmacology Pharmacotherapy**, v. 3, n. 1, p. 64-66, 2012.

KUO, Y. H.; YEH, M. H. Chemical constituents of heartwood of *Bauhinia purpurea*. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 44, n. 4, p.379-383, 1997.

KUO, Y. H.; YEH, M. H.; HUANG, S. L. A novel 6-butyl-3-hydroxyflavanone from heartwood of *Bauhinia purpurea*. **Phytochemistry**, v. 49, n. 8, p. 2529 - 2530, 1998.

KUO, Y. H.; CHU, P. H.; CHANG, C. I. Chemical studies of the bark of *Bauhinia purpurea*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 46, n. 10, p. 1630–1631, 1998.

LABOURIAU, L. G. A germinação das sementes. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, 1983.

LAKSHMI, B. V. S.; NEELIMA, N.; KASTHURI, N.; UMARANI, V.; SUDHAKAR, M. Protective Effect of *Bauhinia purpurea* on Gentamicin-induced Nephrotoxicity in Rats. **Indian Pharmaceutical Association**, v. 71, n. 5, p. 551–554, 2009.

LAKSHMI, B. V. S.; NEELIMA, N.; KASTHURI, N.; UMARANI, V.; SUDHAKAR, M. Antihyperlipidemic activity of *Bauhinia purpurea* extracts in hypercholesterolemic albino rats. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 3, p. 1265-1272, 2011.

LAM, S. H.; CHEN, C. K.; WANG, J. S.; LEE, S. S. Investigation of Flavonoid Glycosides from *Neolitsea sericea* var. *aurata* via the General Method and HPLC-SPE-NMR. **Journal of the Chinese Chemical Society**, v. 55, p. 449-455, 2008.

LANDRAULT, N.; LARRONDE, F.; DELAUNAY, J. C.; CASTAGNINO, C.; VERCAUTEREN, J.; MERILLON, J. M.; GASC, F.; CROS, G.; TEISSEDRE, P. L. Levels of stilbene oligomers and astilbin in French varietal wines and in grapes during noble rot

development. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 50, n. 7, p. 2046-2052, 2002.

LAPA, A. J.; SOUCAR, C.; LANDMAN, M. T.; CASTRO, M. S.; LIMA, T. C. 2008. **Métodos de Avaliação da Atividade Farmacológica de Plantas Medicinais**. São Paulo: Lagoa Editora Ltda.

LARSON, A.; WITMAN, M. A. H.; GUO, Y.; IVES, S.; RICHARDSON, R. S.; BRUNO, R. S.; JALILI, T.; SYMONS, J. D. Acute, quercetin-induced reductions in blood pressure in hypertensive individuals are not secondary to lower plasma angiotensin-converting enzyme activity or endothelin-1: nitric oxide. **Nutrition research**, v. 32, p. 557-564, 2012.

LAUX, D. O.; STEFANI, G. M.; GOTTLIEB, O. R. Bausplendin, a dimethylenedioxyflavone from *Bauhinia splendens*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 5, p. 1081-1084, 1985.

LE BARS, D.; GOZARIU, M.; CADDEN, S. W. Animal models of nociception. **Pharmacological Reviews**, v. 53, p.597-652, 2001.

LEANDRO, L. M.; VEIGA JUNIOR, V. F. O GÊNERO *Eperua* Aublet: UMA REVISÃO. **Scientia Amazonia**, v. 1, n. 2, p. 14-22, 2012.

LEE, S. M.; MOON, J.; CHUNG, J. H.; CHA, Y. J.; SHIN, M. J. Effect of quercetin-rich onion peel extracts on arterial thrombosis in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 57, p. 99–105, 2013.

LEE, S. Y.; SO, Y. J.; SHIN, M. S.; CHO, J. Y.; LEE, J. Antibacterial Effects of Afzelin Isolated from *Cornus macrophylla* on *Pseudomonas aeruginosa*, A Leading Cause of Illness in Immunocompromised Individuals. **Molecules**, v. 19, p. 3173-3180, 2014.

LEMUS, I.; GARCÍA, R.; DELVILLAR, E.; KNOP, G. Hypoglycaemic activity of four plants used in Chilean popular medicine. **Phytotherapy research**, v. 13, p. 91–94, 1999.

LEVINSKY, R. J.; HARVEY, B. A.; RODECK, C. H.; SOOTHILL, J. F. Phorbol myristate acetate stimulated NBT test: a simple method suitable for antenatal diagnosis of chronic granulomatous disease. **Clinical & Experimental Immunology**, v.54, p.595-598, 1983.

LEWAN, L.; ANDERSSON, M.; MORALES, P.G. The use of *Artemia salina* in toxicity test. **Alternatives to laboratory animals ATLA**, v. 20, p. 297-301, 1992.

LEWIS, G. P. **Legumes of Bahia**. Royal Botanic Gardens, Kew, 369p., 1987

LEWIS, G. P. **Tribo Cercideae**. In: Legumes of the World. Kew-Plants People Possibilities, p. 57-67, 2005.

LI, G. S.; JIANG W. L.; YUE, X. D.; QU, G. W.; TIAN, J. W.; WU, J.; FU, F. H. Effect of Astilbin on Experimental Diabetic Nephropathy in vivo and in vitro. **Planta Medica**, v. 75, p. 1470–1475, 2009.

LI, Y. P.; LI, Y. H.; ZHONG, J. D.; LI, R. T. Antioxidant phenolic glycoside and flavonoids from *Pieris japonica*. **Journal of Asian natural products research**, v. 15, n. 8, p. 875-879, 2013.

LIN, W. H.; DENG, Z. W.; LEI, H. M.; FU, H. Z.; LI, J. Polyphenolic compounds from the leaves of *Koelreuteria paniculata* Laxm. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 4, n. 4, p. 287–295, 2002a.

LIN, C. F.; LEU, Y. L.; AL-SUWAYEH, S. A.; KU, M. C.; FANG, T. L. H. J. Y. Anti-inflammatory activity and percutaneous absorption of quercetin and its polymethoxylated compound and glycosides: The relationships to chemical structures. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, p. 857–864, 2012b.

LINO, C. S.; DIÓGENES, J. P. L.; PEREIRA, B. A.; FARIA, R. A. P. G.; ANDRADE NETO, M. ALVES, R. S.; QUEIROZ, M. G. .R.; SOUSA, F.C.S.; VIANA, G. S. B. Antidiabetic Activity of *Bauhinia forficata* Extracts in Alloxan-Diabetic Rats. **Biol. Pharm. Bul**, v. 27, n. 1, p. 125—127, 2004.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In **Methods in enzymology**. Academic Press, London, v.148, p.350-382, 1987.

LIU, H.; GUO, X.; CHU, Y.; LU, S. Heart protective effects and mechanism of quercetin preconditioning on anti-myocardial ischemia reperfusion (IR) injuries in rats. **Gene**, 2014.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras. Manual de identificação**. Editora Plantarum Ltda. Nova Odessa, São Paulo, 1991, 352p.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. 2a. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008, 544p.

LU, Y.; FOO, L. Y. The polyphenol constituents of grape pomace. **Food Chemistry**. v. 65, p. 1-8, 1999.

LUCAS-FILHO, M. D.; SILVA, G.C.; CORTES, S.F.; MARES-GUIA, T.R.; FERRAZ, V. P.; SERRA, C.P.; BRAGA, F.C. ACE inhibition by astilbin isolated from *Erythroxylum gonocladum* (Mart.) O.E. Schulz. **Phytomedicine**, v. 17, p. 383–387, 2010.

LUJÁN, M. C.; CORRAL, C. P. Cribado para evaluar actividad antibacteriana y antimicótica en plantas utilizadas en medicina popular de Argentina. **Revista Cubana de Farmácia**, v. 42, n. 2, 2008.

MARENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral**. 2. ed. Viçosa: UFV, 2005. 451 p.

MACEDO, M.; FERREIRA, A. R. Plantas hipoglicemiantes utilizadas por comunidades tradicionais na Bacia do Alto Paraguai e Vale do Guaporé, Mato Grosso- Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 14, n. 01, p. 45-47, 2004.

MACHADO, H.; NAGEM, T. J.; PETERS, V. M.; FONSECA, C. S.; OLIVEIRA, T. T. Flavonoides e seu potencial terapêutico. **Boletim do Centro de Biologia da Reprodução**, v. 27, n. 1/2, p. 33-39, 2008.

MACÍAS, F. A.; CASTELLANO, D.; MOLINILLO, J. M. G. Search for a standard phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 48, p. 2512-2521, 2000.

MADIKIZELA, B.; ADEROGBA, M. A.; VAN STADEN, J. Isolation and characterization of antimicrobial constituents of *Searsia chirindensis* L. (Anacardiaceae) leaf extracts. **Journal of ethnopharmacology**, v. 150, n. 2, p. 609-13, 2013.

MAGUIRE, J. D. Speed of germination-aid in selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, v.2, n.1, p.176-177,1962.

MAHESWARA, M.; RAO, Y. K.; SIDDAIAH, V.; RAO, C. V.; Isolation of new chalcone from the leaves of *Bauhinia variegata*. **Asian of Journal Chemistry**, v. 18, n. 1, p. 419-422, 2006.

MAIA NETO, M.; ANDRADE NETO, M.; BRAZ FILHO, R.; LIMA, M. A. S.; SILVEIRA, E. R. Flavonoids and alkaloids from leaves of *Bauhinia unguolata* L. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 36, n. 3, p. 227-229, 2008.

MALHEIROS, A.; PERES, M. T. L. P. Alelopatia: interações químicas entre as espécies. In: YUNES, R. A.; CALIXTO, J. B. **Plantas medicinais sob a Ótica da Química Medicinal Moderna**. Chapecó: Argos, 2001, p. 505-506.

MANOEL, D. D.; DOICHE, C. F. R.; FERRARI, T. B.; FERREIRA, G. Atividade alelopática dos extratos fresco e seco de folhas de barbatimão (*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville) e pata-devaca (*Bauhinia forficata* link) sobre a germinação e desenvolvimento inicial de plântulas de tomate. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 63-70, 2009.

MARDONES, O. F.; ENOS, J. A. *Bauhinia candicans* improves the endothelium-dependent relaxation in aortic rings of alloxan-diabetic Rats. **Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas**, v. 9; n. 6, p. 485-490, 2010.

MARKERT, M.; ANDREWS, P. C.; BABIOR, B. M. Measurement of O₂ production by human neutrophils. The preparation and assay of NADPH oxidase-containing particles from human neutrophils. **Methods in Enzymology**, v.105, p. 358-365, 1984.

MARQUES, L. C.; PIERI, C.; ROMAN-JÚNIOR, W. A.; CARDOSO, M. L. C.; GUTIERRE, M. A. M.; MELLO, J. C. P. Controle farmacognóstico das raízes de *Heteropteris afrodisiaca* O. Mach. (Malpighiaceae). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 4, p.604-615, 2007.

MARTÍNEZ-FLÓREZ, S.; GONZÁLEZ-GALLEGO, J.; CULEBRAS, J. M.; TUÑÓN, M. J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. **Nutricion Hospitalaria**, v. XVII, n. 6, p. 271-278, 2002.

MARTÍNEZ, N.; CAYAMA, E.; GONCALVEZ, L. LABRADOR, S.; ESPINO, C.; PÉREZ, L. Efecto hipoglicemiante de la planta *Bauhinia purpúrea* L., en ratones euglicémicos. **Comunidad y Salud**, v. 7, n. 2, p., 45-51, 2009.

MARTÍNEZ, M. M.; OCAMPO, D. M.; GALVIS, J. H.; VALENCIA, A. Actividad antibacteriana y citotoxicidad *in vivo* de extractos etanólicos de *Bauhinia variegata* L. (Fabaceae). **Revista Cubana de Plantas Medicinails**, v.16, n. 4, p. 313-323, 2011.

MATOUK, A. I.; TAYE, A.; HEEBA, G. H.; EL-MOSELHY, M. A. Quercetin augments the protective effect of losartan against chronic doxorubicin cardiotoxicity in rats. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 36, p. 443–450, 2013.

MENA-ALI´, J.I.; ROCHA, O.J. Selective Seed Abortion Affects the Performance of the Offspring in *Bauhinia unguulate*. **Annals of Botany**, v. 95, p. 1017–1023, 2005.

MENEZES, P. R.; SCHWARZ, E. A.; SANTOS, C. A. M. *In vitro* antioxidant activity of the especies collected in Paraná. **Fitoterapia**, v. 75, p. 398–400, 2004.

MENEZES, F. S.; MINTO, A. B. M.; RUELA, H. S.; KUSTER, R. M.; SHERIDAN, H.; FRANKISH, N. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 1, p. 08-13, 2007.

MENSOR, L. L., MENEZES, F. S., LEITÃO, G. G., REIS, A. S., DOS SANTOS, T. C., COUBE, C. S., LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytoterapy Research**, v.15, p. 127-130, 2001.

MESHARAM, S. S. ; ITANKAR, P. R.; PATIL, A. T. To Study Antidiabetic Activity of Stem Bark of *Bauhinia purpurea* Linn. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 2, n. 1, p. 171-175, 2013.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, v.45, p.31-34, 1982.

MEYRE-SILVA, C.; YUNES, R. A.; MONACHE, F. D.; SANTOS, A. R. S.; SCHMELING, L. O.; GADOTTI, F. L.; CECHINEL-FILHO, V. Phytochemical and pharmacological analysis of *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr., Leguminosae. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 56c, p. 939-942, 2001.

MIGUEL, O. G. Ensaio sistemático de análise em fitoquímica. **Apostila da disciplina de fitoquímica do curso de farmácia da UFPR**, Curitiba, 2003.

MIN, B. S.; LEE, S. Y.; KIM, J. H.; LEE, J. K.; KIM, T. J.; KIM, D. H.; KIM, Y. H.; JOUNG, H.; LEE, H. K.; NAKAMURA, N.; MIYASHIRO, H.; HATTORI, M. Anti-complement Activity of Constituents from the Stem-Bark of *Juglans mandshurica*. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 26, n. 7, p. 1042—1044, 2003.

MIRANDA, M. M. F. S. ; ALMEIDA, A. P.; COSTA, S. S.; SANTOS, M. G. M.; LAGROTA, M. H. C.; WIGG, M. D. *In vitro* activity of extracts of *Persea Americana* leaves on acyclovir-resistant and phosphonoacetic resistant Herpes simplex vírus. **Phytomedicine**, v. 4, n. 4, p. 347-352, 1997.

MIRANDA, M. L. D.; SOUZA, A. F.; RODRIGUES, E. D.; GARCEZ, F. R.; GARCEZ, W. S.; ABOT, A. Constituintes químicos das folhas de *Riedeliella graciliflora* Harms (LEGUMINOSAE). **Química Nova**, v. 35, n. 7, p. 1306-1311, 2012.

MISHRA, A.; SHARMA, A. M. K.; KUMAR, S.; SAXENA, A. K.; PANDEY, A. K. *Bauhinia variegata* Leaf Extracts Exhibit Considerable Antibacterial, Antioxidant, and Anticancer Activities. **Biomed Research International**, v. 2013, n. 915436, p. 1-10, 2013.

MITSCHER, L. A. *et al.* Antimicrobial agents from higher plants. **Lloydia**, v. 35, p. 157-166, 1972.

MIYAKE, E. T.; AKISUE, G.; AKISUE, M. K. Caracterização farmacognóstica da pata-de-vaca (*Bauhinia forficata* Link). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, p. 58-68, 1986.

MOHAMED, M. A.; MAMMOUD, M. R.; HAYEN, H. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activities of a new triterpene saponin from *Bauhinia variegata* leaves. **Zeitschrift für Naturforschung C, Journal of biosciences**, v. 64, n.11-12, p. 798-808, 2009.

MOK, S. Y.; LEE, S. Identification of flavonoids and flavonoid rhamnosides from *Rhododendron mucronulatum* for. *albiflorum* and their inhibitory activities against aldose reductase. **Food Chemistry**, v. 136, p. 969–974, 2013.

MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Journal of Science and Technology**, v. 26, p. 211–219, 2004.

MONACHE, F.D.; SUAREZ, L. E .C. 6-C-Formyl and 6-C-Hydroxymethyl flavanones from *Petiveria alliacea*. **Phytochemistry**, v. 31, n. 7, p. 2481-2482, 1992.

MOON, J.; DO, H. J.; KIM, O. Y.; SHIN, M. J. Antiobesity effects of quercetin-rich onion peel extract on the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes and the adipogenesis in high fat-fed rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 58, p. 347–354, 2013.

MORAIS, S. M.; DANTAS, J. D. P.; SILVA, A. R. A.; MAGALHÃES, E. F. Plantas medicinais usadas pelos índios Tapebas do Ceará. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 15, n. 2, p. 169-177, 2005.

MORAIS, S. M., CATUNDA JÚNIOR, F. E. A., SILVA, A. R. A., MARTINS NETO, J. S. Atividade antioxidante de óleos essenciais de espécies de croton do nordeste do Brasil. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 907-910, 2006.

MOREIRA, E. A. Marcha sistemática de análise em fitoquímica. **Tribuna farmacêutica**, v. 47, n. 1, p. 1-19, 1979.

MORENA, G. S.; PÉREZ, J. M. Efecto hepatoprotector inducido por el flavonoide astilbina frente a un modelo animal tratado con tetracloruro de carbono. **Revista Cubana de Plantas Medicinai**s, v. 1, n. 4, p. 36-39, 1999.

MORENO, P. A. M.; TURNER, L. F. Anti-inflammatory and antioxidant action of *Bauhinia kalbreyeri* Harms in an acute intestinal inflammation model used in rats. **Revista Cubana de Plantas Mediciniais**; v. 17, n. 4, p. 343-359, 2012.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival. **Journal of immunological methods**, v. 65, p. 55-63, 1983.

MOTOYASHIKI, T.; MIYAKE, M.; MORITA, T.; MIZUTANI, K.; MASUDA, H.; UEKI, H. Enhancement of the vanadate-stimulated release of lipoprotein lipase activity by astilbin from the leaves of *Engelhardtia chrysolepis*. **Biological & pharmaceutical bulletin.**, v. 21, n. 5, p. 517-519, 1998.

MOULARI, B.; PELLEQUER, Y.; LBOUTOUNNE, H.; GIRARD, C.; CHAUMONTA, J. P.; MILLET, J.; MUYARDB, F. Isolation and in vitro antibacterial activity of astilbin, the bioactive flavanone from the leaves of *Harungana madagascariensis* Lam. ex Poir. (*Hypericaceae*). **Journal of Ethnopharmacology.**, v. 106, p. 272–278, 2006.

MOULARI, B.; PELLEQUER, Y.; CHAUMONT, J. P.; GUILLAUME, Y. C.; MILLET J. In vitro antimicrobial activity of the leaf extract of *Harungana madagascariensis* Lam. Ex Poir. (*Hypericaceae*) against strains causing otitis externa in dogs and cats. **Acta veterinaria Hungarica**, v. 55, n. 1, p. 97–105, 2007.

MOURÃO JÚNIOR, M.; SOUZA FILHO, A.P.S. Diferenças no padrão da atividade alelopática em espécies da família leguminosae. **Planta Daninha**, v. 28, p. 939-951, 2010.

MUHAMMAD, A.; SIRAT, H. M. Antimicrobial, antityrosinase and brine shrimp lethality test of *Bauhinia rufescens* Lam (Fabaceae). **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 1, n. 2, p. 123-128, 2013a.

MUHAMMAD, A.; SIRAT, H. M. Potent microbial and tyrosinase inhibitors from stem bark of *Bauhinia rufescens* (Fabaceae). **Natural product communications**, v. 8, n. 10, p. 1435-1437, 2013b.

MUÑOZ, V.; SAUVAIN, M.; BOURDY, G.; CALLAPA, J.; BERGERON, S.; ROJAS, I.; BRAVO, J.A.; BALDERRAMA, L.; ORTIZ, B.; GIMENEZ, A.; DEHARO, E. A search for natural bioactive compounds in Bolívia through a multidisciplinary approach Part I.

Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 69, p. 127-137, 2000.

MURAKAMI, A.; ASHIDA, H.; TERAQ, J. Multitargeted cancer prevention by quercetin. **Cancer Letters**, v. 269, p. 315–325, 2008.

MURILLO, E.; LOMBO, O.; TIQUE, M.; MÉNDEZ, J. J. Potencial Antioxidante de *Bauhinia Kalbreyeri* Harms (FABACEAE). **Información Tecnológica**, v. 18, n. 6, p. 65-74, 2007.

MUZITANO, M. F.; TINOCO, L. W.; GUETTE, C.; KAISER, C. R.; ROSSI-BERGMANN, B.; COSTA, S. S. The antileishmanial activity assessment of unusual flavonoids from *Kalanchoe pinnata*. **Phytochemistry**, v. 67, p. 2071–2077, 2006.

NAFEES, S.; ALI, N.; RASHID, S.; HASAN, S. K.; SULTANA, S. Chemopreventive Effect of *Bauhinia Purpurea* Against Chemically Induced Hepatocarcinogenesis via Amelioration of Oxidative Damage, Cell Proliferation and Induction of Apoptosis in Wistar Rats. **Toxicology international**, v. 20, n. 2, p. 117-125, 2013.

NASCIMENTO, J. E.; MELO, A. F. M.; LIMA E SILVA, T. C.; VERAS FILHO, J.; SANTOS, E. M.; ALBUQUERQUE, U. P.; AMORIM, E. L. C. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, n. 2, p. 145-150, 2008.

NASCIMENTO, J. C.; LAGE, L. F. O.; CAMARGOS, C. R. D.; AMARAL, J. C.; COSTA, L. M.; SOUSA, A. N.; OLIVEIRA, F. Q. Determinação da atividade antioxidante pelo método DPPH e doseamento de flavonoides totais em extratos de folhas da *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 92, n. 4, p. 327-332, 2011.

NEGI, B. S.; DAVE, B. P.; AGARWAL, Y. K. Evaluation of Antimicrobial Activity of *Bauhinia purpurea* Leaves Under In Vitro Conditions. **Indian journal of microbiology**, v. 52, n. 3, p. 360–365, 2012.

NGUYEN, K. H.; TA, T. N.; PHAM, T. H. M.; NGUYEN, Q. T.; PHAM, H. D.; MISHRA, S.; NYOMBA, B. L. G. Nuciferine stimulates insulin secretion from beta cells. An in vitro comparison with glibenclamide. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 488–495, 2012.

NIRMAL, S. A.; LAWARE, R. B.; RATHI, R. A. ; DHASADE, V. V.; KUCHEKAR, B. S. Antihistaminic effect of *Bauhinia racemosa* leaves. **Journal of young pharmacists**, v. 3, n. 2, p. 129–131, 2011.

NIRMALAM, P.; RAMANATHAN, M. Effect of kaempferol on lipid peroxidation and antioxidant status in 1,2-dimethyl hydrazine induced colorectal carcinoma in rats. **European Journal of Pharmacology**, v. 654, p. 75–79, 2011.

ODABASOGLU, F.; ASLAN, A.; CAKIR, A.; SULEYMAN, H.; KARAGOZ, Y. Comparison of antioxidant activity and total phenolic content of three lichen species. **Phytotherapy Research**, n. 18, p. 938-941, 2004.

OH, H. A.; HAN, N. R.; KIM, M. J.; KIM, H. M.; JEONG, H. J. Evaluation of the effect of kaempferol in a murine allergic rhinitis model. **European Journal of Pharmacology**, v. 718, p. 48–56, 2013.

OJEZELE, M. O.; ABATAN, O. M. Hypoglycaemic and coronary risk index lowering effects of *Bauhinia thonningii* in alloxan induced diabetic rats. **African Health Sciences**, v. 11, n. 1, p. 85-89, 2011.

OKWUTE, S.K.; NDUKWE, G. I.; WATANABE, K.; OHNO, N. Isolation of griffonilide from the stem bark of *Bauhinia thonningii*. **Journal of Natural Products**, v. 49, n. 4, p. 716-717, 1986.

OLIVEIRA, C. Z.; MAIORANO, V. A.; MARCUSSI, S.; SANT'ANA, C. S.; JANUÁRIO, A. H.; LOURENÇO, M. V.; SAMPAIO, S. V.; FRANÇA. S. C.; PEREIRA, P. S.; SOARES, A. M. Anticoagulant and antifibrinogenolytic properties of the aqueous extract from *Bauhinia forficata* against snake venoms. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 98, p. 213–216, 2005.

OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, M. V. M.; VALADARES, M. C.; PAULA, J. R.; COSTA, E. A.; CUNHA, L. C. Avaliação dos efeitos depressores centrais do extrato etanólico das folhas de *Synadenium umbellatum* Pax. e de suas frações em camundongos albinos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n.3, p. 485-491, 2008.

OLIVEROS-BASTIDAS, A. J.; MACÍAS, F. A.; FERNÁNDEZ, C. C.; MARIN, D.; MOLINILLO, J. M. G. Exudados de la raiz y su relevancia actual en las interacciones alelopáticas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 198-213, 2009.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L.; KANEKO, T. M.; NISHIKAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PACHALY, J. R.; BRITO, H. F. V. "Interspecific Allometric Scaling". *In: Biology, Medicine and Surgery of South American Wild Animals*. M. Fowler & Z. Cubas, Eds. Iowa State University Press, Ames. Pp. 267-272, 2001.

PANDEY, S.; AGRAWAL, R. C.; MAHESHWARI, S. In-Vitro Antioxidant and Free Radical Scavenging Activity of *Bauhinia Variiegata* Linn. **International Journal of Scientific and Research Publications**, v. 2, n. 2, p. 1-5, 2012.

PANI, S. R.; MISHRA, S.; SAHOO, S.; PANDA, P. K. Nephroprotective effect of *Bauhinia variegata* (Linn.) whole stem extract against cisplatin-induced nephropathy in rats. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 43, n. 2, p. 200–202, 2011.

PARK, B. H.; FIKRIG, S. M.; SMITHWICK, E. M. Infection and nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils. **The Lancet**, n. 2, p. 532-534, 1968.

PARK, B. H.; GOOD, R. A. N.B.T. test stimulated. **The Lancet**, n. 2, p. 616, 1970.

PARK, H. Y.; TOUME, K.; ARAI, M. A.; KOYANO, T.; KOWITHAYAKORN, T.; ISHIBASHI, M. β -Sitosterol and flavonoids isolated from *Bauhinia malabarica* found during screening for Wnt signaling inhibitory activity. **Journal of natural medicines**, v. 68, p. 242–245. 2014.

PARRA, A.; YHEBRA, R.; SARDINAS, I.; BUELA, L. Comparative study of the assay of *Artemia salina* L. and the estimate of the medium lethal dose (LD50 value) in mice, to determine oral acutotoxicity of plant extracts. **Phytomedicine**, v.8 ,n.5 , p.395-400, 2001.

PAULA, A. C. C. F. F.; ALVARENGA, A. A.; BLATT, C. T. T.; YOUNG, M. C. M.; LADEIRA, A. M. Phenolic constituents of young plants of *Bauhinia forficata*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 5, n. 1, p. 11-13, 2002.

PEPATO, M. T.; KELLER, E. H.; BAVIERA, A. M.; KETTELHUT, I. C.; VENDRAMINI, R. C.; BRUNETTI, I. L. Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficata* decoction in

streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 81, n. 2, p. 191-197, 2002.

PEPATO, M. T.; BAVIERA, A. M.; VENDRAMINI, R. C.; BRUNETTI, I. L. Evaluation of toxicity after one-months treatment with *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-induced diabetic rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 4, p. 1-7, 2004.

PEREIRA, L. G.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; CORREA, A. G.; VIEIRA, P. C.; DA SILVA, M. F. Biological activity of astilbin from *Dimorphandra mollis* against *Anticarsia gemmatalis* and *Spodoptera frugiperda*. **Pest management Science**, v. 58, n. 5, p. 503-507, 2002.

PEROZA, L. R.; BUSANELLO, A.; LEAL, C. Q.; RÖPKE, J.; BOLIGON, A. A.; MEINERZ, D.; LIBARDONI, M.; ATHAYDE, M. L.; FACHINETTO, R. *Bauhinia forficata* prevents vacuous chewing movements induced by haloperidol in rats and has antioxidant potential in vitro. **Neurochemical research**, v. 38, n. 4, p. 789-796, 2013.

PETACCI, F.; FREITAS, S. S.; BRUNETTI, I. L.; KHALIL, N. M. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Biological research**, v. 43, p. 63-74, 2010.

PETTIT, G. R.; NURAMATA, A.; IWAMOTO, C.; USAMI, Y.; YAMADA, T.; OHISHI, H.; GORDON, M. C. Antineoplastic agents. 551. Isolation and structures of bauhiniastatins 1-4 from *Bauhinia purpurea*. **Journal of Natural Products**, v. 69, n. 3, p. 323-327, 2006.

PHILIPPSEN, A. F. Caracterização fitoquímica e atividades biológicas de *Xylosma ciliatifolium* Clos (Eichler) Flacourtiaceae (Salicaceae *sensu lato*). 111 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

PIÑA-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLIA, M. B.; PEIXOTO, M. C. Tecnologia de sementes: Testes de qualidade. In: FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004. p. 265-282.

PIZZOLATTI, M. G.; CUNHA JR., A.; SZPOGANICZ, B.; SOUSA, E.; BRAZ-FILHO, R.; SCHRIPEMA, J. Flavonoides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (LEGUMINOSAE). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 466-469, 2003.

POKHREL, N. R.; ADHIKARI, R. P.; BARAL, M. P. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of *Bauhinia variegata*, locally known as Koiralo. **World journal of microbiology & biotechnology**, v. 18, p. 69–71, 2002.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIDEMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophylls standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimic et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 975, p. 384-394, 1989.

PORT'S, P. S.; CHISTÉ, R. C.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**, v. 53, p. 875–881, 2013.

POTT, A.; POTT, V. J. **Plantas do Pantanal**. Brasília: Embrapa CPAP, Embrapa SPI, 1994. 320p.

PRABHAKAR, P.; GANDHIDASAN, R.; RAMAN, P. V.; KRISHNASAMY, N. R.; NANDURI, S. De-O-methylracemosol: a tetracyclic 2,2- dimethylchroma from the roots of *Bauhinia racemosa*. **Phytochemistry**, v. 36, n. 3, p. 817-818, 1994.

PRAKASH, A.; KHOSA, R.L. Chemical studies on *Bauhinia racemosa*. **Current Science**, v. 45, n. 19, p. 705-707, 1976.

PRASAD, V. G. N. V.; KRISHNA, B. V.; SWAMY, P. L.; RAO, T. S.; RAO, G. S. Antibacterial synergy between quercetin and polyphenolic acids against bacterial pathogens of fish. **Asian Pacific journal of tropical disease**, v. 4, n 1, p. 5326-5329, 2014.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical Biochemistry**, v. 269, p. 337-341, 1999.

PRINCE, P. S. M.; SATHYA, B. Protective effects of quercetin on mitochondrial oxidative stress in isoproterenol induced myocardial infarcted rats: An in vivo and in vitro study. **Food Research International**, v. 49, p. 233–241, 2012.

PRIOR, R. L., WU, X., SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

RAGASA, C. Y.; HOFILEÑA, J.; RIDEOUT, J. A. Secondary Metabolites from *Bauhinia purpurea*. **Philippine Journal of Science**, v. 133, n. 1, p. 1-5, 2004.

RAHMAN, W.; BEGUM, S. J. Flower pigments: flavonoids from the white flowers of *Bauhinia variegata* Linn. **Naturwissenschaften**, v. 53, p. 385. 1966.

RAJANI, G. P.; ASHOK, P. In vitro antioxidant and antihyperlipidemic activities of *Bauhinia variegata* Linn. **Indian Journal of Pharmacology**, v. 41, n. 5, p. 227–232, 2009.

RAJKAPOOR, B.; JAYAKAR, B.; MURUGESH, N. Antitumour activity of *Bauhinia variegata* on Dalton's ascitic lymphoma. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 89, p. 107–109, 2003.

RAJKAPOOR, B.; MURUGESH, N.; RAMA KRISHNA, D. Cytotoxic activity of a flavanone from the stem of *Bauhinia variegata* Linn. **Natural Product Research**, v. 23, n. 15, p. 1384-1389, 2009.

RAMACHANDRAN, R.; JOSHI, B.C. Chemical examination of *Bauhinia purpurea* flowers. **Current Science**, v. 36, n. 21, p. 574-575, 1967.

RAMADAN, M. F.; SHARANABASAPPA, G.; SEETHARAM, Y.N.; SESHAGIRI, M.; MOERSEL, J. T. Characterisation of fatty acids and bioactive compounds of kachnar (*Bauhinia purpurea* L.) seed oil. **Food Chemistry**, v. 98, p. 359–365, 2006.

RAO, Y. K.; FANG, S. H.; TZENG, Y. M. Antiinflammatory Activities of Flavonoids and a Triterpene Caffeate Isolated from *Bauhinia variegata*. **Phytotherapy research**. v. 22, p. 957–962, 2008.

RAMGOPAL, M.; ATTITALLA, I. H., AVINASH, P., BALAJI, M. Evaluation of Antilipidemic and Anti Obesity Efficacy of *Bauhinia purpurea* Bark Extract on Rats Fed with High Fat Diet. **Academic Journal of Plant Sciences**, v. 3, n. 3, p. 104-107, 2010.

RAMOS, S. A.; REMOR, C.; EMENDO, F.; MEYRE-SILVA, C.; CECHINEL-FILHO, V.; SANTOS, A. R. S.; CARDOZO, A. M. Antispasmodic Effects of *Bauhinia microstachya* on Isolated Smooth Muscle. **Pharmaceutical Biology**, v. 43, n. 5, p. 467–470, 2005.

REDDY, M. V.; REDDY, M. K.; GUNASEKAR, D.; CAUX, C.; BODO, B. A flavanone and a dihydrodibenzoxepin from *Bauhinia variegata*. **Phytochemistry**, v. 64, p. 879–882, 2003.

REGASINI, L. O.; FERNANDES, D. C.; GAMBOA, I. C.; SILVA, D. H. S.; FURLAN, M.; BOLZANI, V. S., BARREIRO, E. J.; LOPES, E. M. C.; YOUNG, M. C. M.; TORRES, L. B.; VELLOSA, J. C. R.; OLIVEIRA, O. M. M. Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (CAESALPINIOIDEAE). **Química Nova**, v. 31, n. 4, p. 802-806, 2008a.

REGASINI, L. O.; VELLOSA, J. C.; SILVA, D. H.; FURLAN, M.; DE OLIVEIRA, O. M.; KHALIL, N. M.; BRUNETTI, I. L.; YOUNG, M. C.; BARREIRO, E. J.; BOLZANI, V. S. Flavonols from *Pterogyne nitens* and their evaluation as myeloperoxidase inhibitors. **Phytochemistry**, v. 69, n. 8, p. 1739-44, 2008b.

REIGOSA, M. J.; SÁNCHEZ-MOREIRAS, A.; GONZÁLEZ, L. Ecophysiological approach in allelopathy. **Critical Reviews in Plant Sciences**, v. 18, n. 5, p. 577-608, 1999.

REIS, M.S.; MARIOT, A.; STEENBOCK, W. Diversidade e domesticação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C.M.O. *et al.* **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/ Ed. da UFSC, 2003. p. 45-74.

REISCH, J.; HUSSAIN, R. A.; MESTER, J. Flavonoids from *Flindersia australis*. **Phytochemistry**, v. 23, n. 9, p. 2114-2115, 1984.

RHO, H. S.; GHIMERAY, A. K.; YOO, D. S.; AHN, S. M.; KWON, S. S.; LEE, K. H.; CHO, D. H.; CHO, J. Y. Kaempferol and Kaempferol Rhamnosides with Depigmenting and Anti-Inflammatory Properties. **Molecules**, v. 16, p. 3338-3344, 2011.

RICE, E.L. Allelopathy. 2^a ed. New York, Academic Press, 1984.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free radical biology & medicine**, v. 20, p.933-956, 1996.

RIGBY, K. M.; DELEO, F. R. Neutrophils in innate host defense against *Staphylococcus aureus* infections. **Seminars in Immunopathology**, v. 34, n. 2 p. 237-259, 2012.

ROBASZKIEWICZ, A.; BALCERCZYK, A.; BARTOSZ, G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. **Cell Biology International**, v. 31, p. 1245-1250, 2007.

ROCKENBACH, L.; BAVARESCO, L.; FARIAS, P. F.; CAPPELLARI, A. R.; BARRIOS, C. H.; MORRONE, F. B.; BATTASTINI, A. M. O. Alterations in the extracellular catabolism of nucleotides are involved in the antiproliferative effect of quercetin in human bladder cancer T24 cells. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 31, p. 1204–1211, 2013.

RODRIGUES, K. C. S. **Verificação da atividade alelopática de *Myrciaria cuspidata* Berg.** (Camboim). 2002. 78f. Dissertação (Mestrado em Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002.

RODRIGUEZ, P.; GONZÁLEZ-MUJICA, F.; BERMÚDEZ, J.; HASEGAWA, M. Inhibition of glucose intestinal absorption by kaempferol 3-O- α -rhamnoside purified from *Bauhinia megalandra* leaves. **Fitoterapia**, v. 81, p. 1220–1223, 2010.

ROGINSKY, V., LISSI, E. A. Review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food, **Food chemistry**, v. 92, n. 2, p. 235-254, 2005.

ROMÁN-RAMOS, R.; ALARCÓN-AGUILAR, F.; LARA-LEMUS, A.; FLORES-SAENZ, J. L. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. **Archives of medical research**, v. 23, p. 59–64, 1992.

RUANGNOO, S.; JAIAREE, N.; MAKCHUCHIT, S.; PANTHONG, S.; THONGDEEYING, P.; ITHARAT, A. An in vitro inhibitory effect on RAW 264.7 cells by anti-inflammatory

compounds from *Smilax corbularia* Kunth. **Asian Pacific journal of allergy and immunology**, v. 30, p. 268-74, 2012.

RUSSELL, W. M. S., BURCH, K. L. **The principles of humane experimental technique**. UFAW, London: UFAW; 1992. Disponível em: <http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc>. Acesso em: 22/08/2013.

RUSSO, E. M.; REICHEL, A. A.; DE-SÁ, J. R.; FURLANETTO, R. P.; MOISÉS, R. C.; KASAMATSU, T. S.; CHACRA, A. R. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 23, n. 1, p. 11-20, 1990.

SAHAA, S.; SUBRAHMANYAM, E. V. S.; KODANGALA, C.; SHASTRY, S. C. Isolation and characterization of triterpenoids and fatty acid ester of triterpenoid from leaves of *Bauhinia variegata*. **Der Pharma Chemica**, v. 3, p. 4, p. 28-37, 2011.

SAHU, R. K.; KAR, M.; ROUSTRAY, R. DPPH Free Radical Scavenging Activity of Some Leafy Vegetables used by Tribals of Odisha, India. **Journal of Medicinal Plants Studies**, v. 1, n. 4, p. 21-27, 2013.

SALGUEIRO, A. C. F.; LEAL, C. Q.; BIANCHINI, M. C.; PRADO, L. O.; MENDEZ, A. S. L.; PUNTEL, R. L.; FOLMER, V.; SOARES, F. A.; ÁVILA, D. S.; PUNTEL, G. O. The influence of *Bauhinia forficata* Link subsp. *pruinosa* tea on lipid peroxidation and non-protein SH groups in human erythrocytes exposed to high glucose concentrations. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 148, n. 1, p. 81-87, 2013.

SANTOS, S. P. O paradoxo francês. **Revista do Vinho**, Bento Gonçalves, v. 33, p. 14, 1992.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.; A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª ed. Porto Alegre, Editora da UFRGS. 2003.

SANTOS, K. M.; GONÇALVES, P. S.; PAIVA, M. J.; LACERDA, G. A. Acetylcholinesterase inhibition starting from extracts of *Bauhinia variegata* L., *Bauhinia* var. *candida* (Aiton) Buch.-Ham., and *Bauhinia unguolata* L. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 6, p. 781-3, 2011.

SANTOS, F. J. B.; MOURA, D. J.; PERES, V. F.; SPEROTTO, A. R. M.; CARAMAO, E. B.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; SAFFI, J. Genotoxic and mutagenic properties of *Bauhinia platypetala* extract, a traditional Brazilian medicinal plant. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, p. 474–482, 2012a.

SANTOS, M. M.; NUNES, M. G. S.; MARTINS, R. D. Uso empírico de plantas medicinais para tratamento de diabetes. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.14, n.2, p.327-334, 2012b.

SANTOS, F. J. B.; LIMA, S. G.; CERQUEIRA, G. S.; ANTÔNIA MARIA DAS GRAÇA LOPES CITÓ, A. M. G. L.; CAVALCANTE, A. A. C. M.; MARQUES, T. H. C.; FREITAS, R.M. Chemical composition and anxiolytic-like effects of the *Bauhinia platypetala*. **Revista brasileira de farmacognosia**, v. 22, n. 3, p. 507-516, 2012c.

SANTOS, P. M.; ALMEIDA, P. D. O.; LIMA, E. S.; MORAES, M. O.; COSTA, P. M.; MEIRA, A. S.; Ó PESSOA, C.; VALENTE, L. M. M.; VEIGA JUNIOR, V. F. Perfil de flavonoides e avaliação do potencial antioxidante e citotóxico de *Bauhinia purpurea* (Fabaceae) da região Amazônica. **Química. Nova**, v. 37, n. 1, p. 89-94, 2014.

SASHIDHARA, K. V.; SINGH, S. P.; MISRA, S.; GUPTA, J.; MISRA-BHATTACHARYA, S. Galactolipids from *Bauhinia racemosa* as a new class of antifilarial agents against human lymphatic filarial parasite, *Brugia malayi*. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 50, p. 230–235, 2012.

SASHIDHARA, K. V.; SINGH, S. P.; SRIVASTAVA, A.; PURI, A. Main extracts and hypolipidemic effects of the *Bauhinia racemosa* Lam. leaf extract in HFD-fed hamsters. **Natural Products Research**, v. 27, n. 12, p. 1127-31, 2013

SAVI, A.O.S.; BREVIGLIERI, E.; BELLA CRUZ, A.; YUNES, R.A.; CECHINEL FILHO, V. Antibacterial activity of *Bauhinia splendens* leaves (Leguminosae). **Revista de biologia tropical**, v. 44/45, p. 601–603, 1996.

SAYAGO, C. T. M.; CAMARGO, V. B.; BARBOSA, F.; GULARTE, C. G.; PEREIRA, G.; MIOTTO, S.; CECHINEL FILHO, V.; PUNTEL, R. L.; FOLMER, V.; MENDEZ, A. Chemical composition and *in vitro* antioxidant activity of hydro-ethanolic extracts from *Bauhinia forficata* subsp. *pruinosa* and *B. variegata*. **Acta Biologica Hungarica**, v. 64, n. 1,p. 21–33, 2013.

SCHMALHAUSEN, E. V.; ZHLOBEK, E. B.; SHALOVA, I. N.; FIRUZI, O.; SASO, L.; MURONETZ, V. I. ,Antioxidant and prooxidant effects of quercetin on glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, p. 1988–1993, 2007.

SCHWARZ, S.; SAUTER, D.; WANG, K.; ZHANG, R.; SUN, B.; KARIOTI, A.; BILIA, A. R.; EFFERTH, T.; SCHWARZ, W. Kaempferol Derivatives as Antiviral Drugs against the 3a Channel Protein of Coronavirus. **Planta Medica**, v. 80, n 2-3, p. 177-182, 2014.

SEIBERT, H.; MASER, E.; SCHWEDA, K.; SEIBERT, S.; GULD, M. Cytoprotective activity against peroxide-induced oxidative damage and cytotoxicity of flavonoids in C6 rat glioma cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 2398–2407, 2011.

SEKEROGLU, Z. A.; SEKEROGLU, V. S. Effects of *Viscum album* L. extract and quercetin on methotrexate-induced cyto-genotoxicity in mouse bone-marrow cells. **Mutation Research**, v. 746, p. 56– 59, 2012.

SEMWAL, S.; SHARMA, R. K. A new lignan rhamnoside from *Bauhinia retusa* seed pods (Caesalpiniaceae). **Chinese Chemical Letters**, v. 22, p. 1081–1083, 2011a.

SEMWAL, S.; SHARMA, R. K. Antibacterial sesquiterpene lactone glucoside from seed pods of *Bauhinia retusa*. **Journal of Asian natural products research**, v. 13, n. 1, p. 75-79, 2011b.

SHAJISELVIN, C. D.; SOMASUNDARAM, G.; MUTHU, A. K. In-vitro antioxidant potential of various extracts from whole plant of *Bauhinia purpurea* (Linn). **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 2, p. 919-924, 2011.

SHANG, X.; LI, S.; WANG, Y.; WANG, S.; YANG, Y.; SHI, J. Chemical constituents of *Bauhinia aurea*. **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 31, n. 23, p. 1953-1955, 2006.

SHANG, X. Y.; LI, S.; WANG, S. J.; YANG, Y. C.; SHI, J. G. Dihydroflavonol glycosides and flavan-3-ols from *Bauhinia aurea*. **Zhongguo Zhong Yao Za Zhi**, v. 32, n. 9; p. 815-818, 2007.

SHANG, X. Y.; LI, S.; WANG, S. J.; YANG, Y. C.; SHI, J. G. Chemical constituents of *Bauhinia aurea*. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 14, n. 10, p. 966–972, 2012.

SHAO, B.; GUO, H. Z.; CUI, Y.J.; LIU, A. H.; YU, H. L.; GUO, H.; XU, M.; GUO, D. A. Simultaneous determination of six major stilbenes and flavonoids in *Smilax china* by high performance liquid chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 44, p. 737–742, 2007.

SHARMA, N.; BHARDWAJ, R.; KUMAR, S.; KAUR, S. Evaluation of *Bauhinia variegata* L. bark fractions for in vitro antioxidant potential and protective effect against H₂O₂-induced oxidative damage to pBR322 DNA. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 5, n. 12, p. 1494-1500, 2011.

SHARMILA, G.; BHAT, F.A.; ARUNKUMAR, R.; ELUMALAI, P.; SINGH, P. R.; SENTHILKUMAR, K.; ARUNAKARAN, J. Chemopreventive effect of quercetin, a natural dietary flavonoid on prostate cancer in in vivo model. **Clinical Nutrition**, v. , p. 1-9, 2013.

SHIN, S. W.; JUNG, E.; KIM, S.; KIM, J. H.; KIM, E. G.; LEE, J.; PARK, D. Antagonizing Effects and Mechanisms of Afzelin against UVB-Induced Cell Damage. **Plos one**, v. 8, n. 4, 2013.

SHIRAI, M.; YAMANISHI, R.; MOON, J. H.; MUROTA, K.; TERAOKA, J. Effect of quercetin and its conjugated metabolite on the hydrogen peroxide-induced intracellular production of reactive oxygen species in mouse fibroblasts. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, v. 66, p. 1015-1021, 2002.

SHREEDHARA, C. S.; VAIDYA, V. P.; VAGDEVI, H. M.; LATHA, K. P.; MURALIKRISHNA, K. S.; KRUPANIDHI. Screening of *Bauhinia purpurea* Linn. for analgesic and anti-inflammatory activities. **Indian journal of pharmacology**, v. 41, n. 2, p. 75–79, 2009.

SIELGEL, P. S. A simple electronic device for the measurement of gross bodily activity of small animals. **Journal of Psychology**, v.21, p.227-236, 1946.

SILVA, D. H. S.; YOSHIDA, M.; KATO, M. J. Flavonoids from *Iryanthera sagotiana*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 3, p. 579- 582, 1997.

SILVA, K.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; YUNES, R. A.; MONACHE, F. D.; CECHINEL, V. Phytochemical and pharmacognostic investigation of *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae). **Zeitschrift fur Naturforschung**, v. 55c, p. 478-480, 2000.

SILVA, K. L., CECHINEL-FILHO, V. Plantas do Gênero *Bauhinia*: Composição Química e Potencial Farmacológico. **Química Nova**, v.25, n. 3, p.449-454, 2002.

SILVA, A. M. O.; SILVA, F. T.; NUNES, R. S.; MARÇAL, R. M.; CAVALCANTI, S. C. H.; ANTONIOLLI, A. R. Antinociceptive activity of the aqueous extract of *Bauhinia cheilantha* (BONG.) STEUD. (LEGUMINOSAE: CAESALPINIOIDEAE). **Biologia Geral e Experimental**, v. 5, n. 2, p. 10-15, 2005.

SILVA, M. I. G.; GONDIM, A. P. S.; NUNES, I. F. S.; SOUSA, F. C. F. Utilização de fitoterápicos nas unidades básicas de atenção à saúde da família no município de Maracanaú (CE). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 16, n. 4, p. 455-462, 2006.

SILVA, E. G.; BEHR, G. A.; ZANOTTO-FILHO, A.; LORENZI, R.; PASQUALI, M. A. B.; RAVAZOLO, L. G.; BORDIGNON JR., C. L.; SILVA, F. A. ; ABOY, A. L.; BASSANI, V. L.; HENRIQUES, A. T.; REGINATTO, F. H.; DAL-PIZZOL, F.; MOREIRA, J. C. F. Antioxidant Activities and Free Radical Scavenging Potential of *Bauhinia microstachya* (RADDI) MACBR. (Caesalpinaceae) Extracts Linked to Their Polyphenol Content. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 30, n. 8, p. 1488-1496, 2007.

SILVA, M. A. B.; MELO, L. V. L.; RIBEIRO, R. V.; SOUZA, J. P. M.; LIMA, J. C. S.; MARTINS, D. T. O.; SILVA, R. M. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 20, n. 4, p. 549-562, 2010.

SILVA, M. C. C.; PAULA, C. A. A.; FERREIRA, J. G.; PAREDES-GAMERO, E. J.; VAZ, A. M. S. F.; SAMPAIO, M. U.; CORREIA, M. T. S.; OLIVA, M. L. V. *Bauhinia forficata* lectin (BfL) induces cell death and inhibits 2 integrin-mediated adhesion on MCF7 human breast cancer cells. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1840, n 7, p. 2262-2271, 2014.

SINGH, R. S.; PANDEY, H. S. G. Two new long chain compounds *Bauhinia variegata* Linn. **Indian Journal of Chemistry (section B)**, v. 45, n. 9, p. 2151-2153, 2006.

SINGH, R.; SINGH, B.; SINGH, S.; KUMAR, N.; KUMAR, S.; ARORA, S. Anti-free radical activities of kaempferol isolated from *Acacia nilotica* (L.) Willd.Ex. Del. **Toxicology in Vitro**, v. 22, p. 1965–1970, 2008.

SINGH, K. L.; SINGH, D. K.; SINGH, V. K. Characterization of the molluscicidal activity of *Bauhinia variegata* and *Mimusops elengi* plant extracts against the *Fasciola* vector *Lymnaea acuminata*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, v. 54, n. 3, p. 135-140, 2012.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR., J. A. Colorimetry of total phenolics with phophomolybdc-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p. 144-158, 1965.

SIQUEIRA, J. M.; ZIMINIANI, M. G.; RESENDE, U. M.; BOAVENTURA, M. A. D. Estudo fitoquímico das cascas do caule de *Duguetia glabriuscula* - Annonaceae, biomonitorado pelo ensaio de toxicidade frente a *Artemia salina* LEACH. **Química Nova**, v. 24, n. 2, p.185-187, 2001.

SIVASOTHY, Y.; SULAIMAN, S. F.; OOI, K. L.; IBRAHIM, H.; AWANG, K. Antioxidant and antibacterial activities of flavonoids and curcuminoids from *Zingiber spectabile* Griff. **Food Control**, v. 30, p. 714-720, 2013.

SMITH, M. A., HARRIS, P. L. R., SAYRE, L. M., BECKMAN, J. S.; PERRY, G. Widespread Peroxynitrite-Mediated Damage in Alzheimer's Disease. **Journal of neuroscience**, v. 17, p. 2653–2657, 1997.

SOCOLSKY, C.; ASAKAWA, Y.; BARDÓN, A. Diterpenoid Glycosides from the Bitter Fern *Gleichenia quadripartit*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 12, p. 1837-1845, 2007.

SOSA, S.; BRACA, A.; ALTINIER, G.; LOGGIA, R. D.; MORELLI, I.; TUBARO, A. Topical anti-inflammatory activity of *Bauhinia tarapotensis* leaves. **Phytomedicine**, v. 9, p. 646–653, 2002.

SOUSA, E.; ZANATTA, L.; SEIFRIZ, I.; CRECZYNSKI-PASA, T. B.; PIZZOLATTI, M. G.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, F. R. M. B. Hypoglycemic effect and antioxidant potential of kaempferol-3,7-*O*-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **Journal of Natural Products**, v. 67, p. 829-832, 2004.

SOUZA, C. R. F. S.; GEORGETTI, S. R.; SALVADOR, M. J.; FONSECA, M. J. V.; OLIVEIRA, W. P. Antioxidant activity and physical-chemical properties of spray and spouted bed dried extracts of *Bauhinia forficata*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 2, 2009.

SOWNDHARARAJAN, K.; KANG, S. C. Free radical scavenging activity from different extracts of leaves of *Bauhinia vahlii* Wight & Arn. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 20, p. 319–325, 2013.

STEPONKUS, P. L.; LANPHEAR, F. O. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. **Plant Physiology**, v. 42, p. 1423-26, 1967.

SU, B. N.; CUENDET, M.; HAWTHORNE, M. E.; KARDONO, L. B. S.; RISWAN, S.; FONG, H. H. S.; MEHTA, R. G.; PEZZUTO, J. M.; KINGHORN, A. D. Constituents of the Bark and Twigs of *Artocarpus dadah* with Cyclooxygenase Inhibitory Activity. **Journal of Natural Products**, v. 65, p. 163-169, 2002.

SUFFNESS, M., PEZZUTO, J. M. Assay related to cancer drug discovery. In: Hostettman K, editor. **Methods in plant biochemistry: assay for bioactivity**. London: Academic Press. p. 71–133, 2009.

SULTANA, S.; ILYAS, M.; MOHAMMED, K.; SHAIDA, W.A.. Chemical investigation of *Bauhinia vahlii*. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 62, n. 4, p. 337, 1985.

TAIPE, G. M.; GÓMEZA, A. L. R. T.; CAYCHO, J. R. Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl. **Revista de la Sociedad Química del Perú**, v. 74, n. 4, 233-246, 2008.

TANG, Y.; GAO, C.; XING, M.; LI, Y.; ZHU, L.; WANG, D.; YANG, X.; LIU, L.; YAO, P. Quercetin prevents ethanol-induced dyslipidemia and mitochondrial oxidative damage. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 1194–1200, 2012.

TANG, Y.; LI, Y.; YU, H.; GAO, C.; LIU, L.; XING, M.; LIU, L. YAO, P. Quercetin attenuates chronic ethanol hepatotoxicity: Implication of “free” iron uptake and release. **Food and Chemical Toxicology**, v. 67, p. 131–138, 2014.

TATSIMO, S. J. N.; TAMOKOU, J. D.; HAVYARIMANA, L.; CSUPOR, D.; FORGO, P.; HOHMANN, J.; KUIATE, J. R.; TANE, P. Antimicrobial and antioxidant activity of kaempferol rhamnoside derivatives from *Bryophyllum pinnatum*. **BMC Research Notes**, v. 5, n. 158, 2012.

TATSIS, E. C.; BOEREN, S.; EXARCHOU, V.; TROGANIS, A. N.; VERVOORT, J.; GEROTHANASSIS, I. P. Identification of the major constituents of *Hypericum perforatum* by LC/SPE/NMR and/or LC/ MS. **Phytochemistry**, v. 68, p. 383–393, 2007.

THE PLANT LIST (2013). Version 1.1. Disponível em:<<http://www.theplantlist.org>> Acesso em: 01/01/2014

TIWARI, K. P.; MASOOD, M.; RATHORE, Y. K. S. Flavonoid constituents of bark of *Bauhinia retusa*. **NATO ASI Series**, v. 48, n. 3, p. 183-184, 1978.

TJOLSEN, A.; BERGE, O. G.; HUNSKAAR, S.; ROSLAND, J. H.; HOLE, K. The formalin test: an evaluation of the method. **Pain**, v. 51, p.5-17, 1992.

TONGJAROENBUANGAM, W.; RUKSEE, N.; CHANTIRATIKUL, P.; PAKDEENARONG, N.; KONGBUNTAD, W.; GOVITRAPONG, P. Neuroprotective effects of quercetin, rutin and okra (*Abelmoschus esculentus* Linn.) in dexamethasone-treated mice. **Neurochemistry International**, v. 59 p. 677–685, 2011.

TROJAN-RODRIGUES, M.; ALVES, T. L. S.; SOARES, G. L. G.; RITTER, M. R. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 139, p. 155– 163, 2012.

TROUSDALE, E. K.; SINGLETON, V. L. Astilbin and engeletin in grapes and wine. **Phytochemistry**, v. 22, n. 2, p. 619-620, 1983.

TSUTOMU, H.; TAEKO, Y.; RIEKO, Y.; YUKIHIKO I, MUNETO M, KAZUFUMI Y, ISAO A, SANSEI N, TADATAKA N, MASSAO Y, TAKUO O. Inhibitory Effects of Galloylated Flavonoids on Xanthine Oxidase. **Planta Medica**, v. 57, n. 1, p. 83-84, 1991.

ULISSES, C.; ROCHA, P.; ALBUQUERQUE, C.; CAMARA T R, WILLADINO L. **Determinación de prolina en yemas de plátano seleccionadas *in vitro* en cuanto a**

la tolerancia a la salinidad. In: Encuentro latinoamericano de biotecnología vegetal, 1998, La Habana, Cuba. Anais. 1, p. 334-35.

USMAN, H.; ABDULRAHMAN, F. I.; KAITA, A. H.; KHAN, I. Z. Antibacterial assays of the solvents partitioned portions of methanol stem bark extract of *Bauhinia rufescens* Lam (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Packaging science & technology**, v. 10, n. 2, p. 857-867, 2009.

UZUN, F. G.; KALENDER, Y. Chlorpyrifos induced hepatotoxic and hematologic changes in rats: The role of quercetin and catechin. **Food and Chemical Toxicology**, v. 55, p. 549–556, 2013.

VAN HOORN, D. E.; NIJVELDT, R. J.; VAN LEEUWEN, P. A.; HOFMAN, Z.; M'RABET, L.; DE BONT, D. B.; VAN NORREN, K. Accurate prediction of xanthine oxidase inhibition based on the structure of flavonoids. **European journal of pharmacology**, v. 451, n. 2, p. 111-118, 2002.

VAZ, A. M. S. F.; TOZZI, A. M. G. A. *Bauhinia* ser. *Cansenia* (Leguminosae: Caesalpinioideae no Brasil). **Rodriguésia**, v. 54, p. 55-143, 2003.

VAZ, A. M. S. F. *Bauhinia* in Lista de Espécies da Flora do Brasil 2014. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22831>. Acesso em 05/03/2014.

VEENA, R. I.; VEENA, G.; BHAGAVAN, R. M.; TEJESWINI, G.; UDAY, B. G.; SOWMYA, P. Evaluation of Hepatoprotective Activity of *Bauhinia purpurea* Linn. **International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences**, v. 2, n. 3, p. 1389-1393, 2011.

VELJACA, M.; LESCH, C. A.; PLLANA, R.; SANCHEZ, B.; CHAN, K.; GUGLIETTA, A. J. BPC-15 reduces trinitrobenzene sulgonic acid-induced colonic damage in rats. **Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, v. 272, p. 417-422, 1995.

VENGE, P. Eosinophil activity in bronchial asthma. **Allergy proceedings**, v. 15, n. 3, p. 139-141, 1994.

VIANA, E. P.; SANTA-ROSA, R. S.; ALMEIDA, S. S. M. S.; SANTOS, L. S. Constituents of the stem bark of *Bauhinia guianensis*. **Fitoterapia**, v. 70, n. 1, p. 111- 112, 1999.

VOLP, A. C. P.; RENHE, I. R. T.; BARRA, K.; STRINGUETA, P. C. Flavonoides antocianinas: características e propriedades na nutrição e saúde. **Revista Brasileira Nutr. Cin**, v. 23, n. 3, p.141-149, 2008.

VOLPATO, G. T. Repercussões maternas, reprodutivas e perinatais do tratamento com extrato aquoso de folhas de *Bauhinia forficata* (pata-de-vaca) na prenhez de ratas não-diabéticas e diabéticas. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 23, n. 6, p. 404-404, 2001.

WANG, J.; ZHAO, Y.; XU, Q. Astilbin prevents concanavalin A-induced liver injury by reducing TNF-alpha production and T lymphocytes adhesion. **Journal of pharmaceutics & pharmacology**, v. 56, n. 4, p. 495–502, 2004.

WANG, X. D. Studies on the Transport of Taxifolin and Astilbin in vitro and Pharmacokinetics in Rats. **Doctoral thesis**, Zhejiang University, 2009.

WANGA, P.; VADGAMAA, J. V.; SAIDD, J. W.; MAGYARD, C. E.; DOAND, N.; HEBERB, D.; HENNING, S. M. Enhanced inhibition of prostate cancer xenograft tumor growth by combining quercetin and green tea. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, p. 73–80, 2014.

WEN, L.; WU, D.; JIANG, Y.; PRASAD, K. N.; LIN, S.; JIANG, G.; HE, J.; ZHAO, M.; LUO, W.; YANG, B. Identification of flavonoids in litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) leaf and evaluation of anticancer activities. **Journal of functional foods**, v. 6, p. 555-563, 2014.

WILHELM FILHO, D., SILVA, E. L.; BOVERIS, A. Flavonoides antioxidantes de plantas medicinais e alimentos: importância e perspectivas terapêuticas. In: Yunes RA, Calixto JB. **Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna**. Chapecó: Universidade do Oeste de Santa Catarina; 2001. p.317-334.

WILLAIN FILHO, A.; BREVIGLIERI, E.; CECHINEL FILHO, V.; SANTOS A.R.S. Antinociceptive Effect of the Hydroalcoholic Extract of *Bauhinia splendens* Stems in Mice. **Journal of Pharmacy and. Pharmacology**, v. 49, n. 8, p. 823–827, 1997.

WINKEL-SHIRLEY, B. Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology. **Plant Physiology**, v. 126, p. 485-493, 2001.

WINTER, C. A.; RISLEY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenin-induced edema in hind paw of the rat as an assay for antiinflammatory drugs. **Experimental Biology and Medicine**, v. 111, p. 544-547, 1962.

WIRASATHIEN, L.; PENGSUPARP, T.; SUTTISRI, R.; UEDA, H.; MORIYASU, M.; KAWANISHI, K. Inhibitors of aldose reductase and advanced glycation end-products formation from the leaves of *Stelechocarpus cauliflorus* R.E. Fr. **Phytomedicine**, v.14, 546–550, 2007.

WU, Z. B.; ZHAO, Y. T.; YANG, X. W.; LIANG, H. Flavonoids from *Bauhinia glauca* subsp. *Pernervosa*. **Chemical & pharmaceutical bulletin**, v. 57, n. 6, p. 628–631, 2009a.

WU, Z.; WANG, B.; ZHAO, Y.; YANG, X.; LIANG, H. Chalcones from *Bauhinia glauca* subsp. *Pernervosa*. **Zongguo Zhongyao Zazhi**, v. 34, n. 13, p. 1676-1678, 2009b.

WU, H. C.; CHENG, M. J.; PENG, C. F.; YANG, S. C.; CHANG, H. S.; LIN, C. H.; WANG, C. J.; CHEN, I. S. Secondary metabolites from the stems of *Engelhardia roxburghiana* and their antitubercular activities. **Phytochemistry**, v. 82, p. 118–127, 2012a.

WU, Y. B.; ZHENG, L. J.; WU, J. G.; CHEN, T. Q.; YI, J.; WU, J. Z. Antioxidant Activities of Extract and Fractions from Receptaculum *Nelumbinis* and Related Flavonol Glycosides. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 7163-7173, 2012b.

WUNGSINTAWEEKUL, B.; UMEHARA, K.; MIYASE, T.; NOGUUCH, H. Estrogenic and anti-estrogenic compounds from the Thai medicinal plant, *Smilax corbularia* (Smilacaceae). **Phytochemistry**, v. 72, p. 495–502, 2011.

XIAO, M.; CAO, N.; FAN, J. J.; SHEN, Y.; XU, Q. Studies on flavonoids from the leaves of *Lindera aggregate*. **Zhong Yao Cai**, v. 34, n. 1, p. 62-4, 2011.

XU, G. H.; RYOO, I. J.; KIM, Y. H.; CHOO, S. J.; YOO, L. D. Free Radical Scavenging and Antielastase Activities of Flavonoids from the Fruits of *Thuja orientali*. **Arch Pharm Res**, v. 32, n. 2, p. 275-282, 2009.

XU, Y. J.; CAPISTRANO, R.; DHOOGHE, L.; FOUBERT, K.; LEMIÈRE, F.; MAREGESI, S.; BALDÉ, A.; APERS, S.; Pieters, I. Herbal Medicines and Infectious Diseases: Characterization by LC-SPE-NMR of Some Medicinal Plant Extracts Used against Malaria. **Planta Medica**, v. 77. p.1139–1148, 2011.

XU, W.; CHU, K.; LI, H.; ZHANG, Y.; ZHENG, H.; CHEN, R.; CHEN, L. Ionic Liquid-Based Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids from *Bauhinia championii* (Benth.) Benth. **Molecules**, v. 17, n. 12, p. 14323-14335, 2012.

XU, W. A.; YIN, L.; PAN, H. Y.; SHI, L.; XU, L.; ZHANG, X. DUAN, J. A. Study on the correlation between constituents detected in serum from Rhizoma *Smilacis Glabrae* and the reduction of uric acid levels in hyperuricemia. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 747–754, 2013.

YADAVA, R. N.; TRIPATHI, P. A novel flavone glycoside from the stem of *Bauhinia purpurea*. **Fitoterapia**, v. 71, p. 88-90, 2000.

YADAVA, R. N.; REDDY, V.M. S. Anti-inflammatory activity of a novel flavonol glycoside from the *Bauhinia variegata* Linn. **Natural Product Research**, v. 17, n. 3, p. 165-169, 2003a.

YADAVA, R. N.; JAIN, S. Anti-inflammatory activity of a flavone glycoside from *Bauhinia retusa* Roxb. **Journal of the Institution of Chemists**, v. 75, n. 4, p. 113-116, 2003b.

YADAV, S.; BHADORIA, B. K. Two dimeric flavonoids from *Bauhinia purpurea*. **Indian Journal of Chemistry**, v. 44, n. 12, p. 2604-2607, 2005.

YAHYA, F.; MAMAT, S. S.; KAMAROLZAMAN, M. F. F.; SEYEDAN, A. A.; JAKIUS, K. F.; MAHMOOD, N. D.; SHAHRIL, M. S.; SUHAILI, Z.; MOHTARRUDIN, N.; SUSANTI, D.; SOMCHIT, M. N.; TEH, L. K.; SALLEH, M. Z.; ZAKARIA, Z. A. Hepatoprotective Activity of Methanolic Extract of *Bauhinia purpurea* Leaves against Paracetamol-Induced Hepatic Damage in Rats. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, 2013.

YANG, J. H.; KONDRATYUK, T. P.; MARLER, L. E.; QIU, X.; CHOI, X.; CAO, H.; YU, R.; STURDY, M.; PEGAN, S.; LIU, Y.; WANG, L. Q.; MESECAR, A. D.; BREEMEN, R. B. V.; PEZZUTO, J. M.; FONG, H. H. S.; CHEN, Y. G.; ZHANG, H. J. Isolation and evaluation of kaempferol glycosides from the fern *Neocheiropteris palmatopedata*. **Phytochemistry**, v. 71, p. 641–647, 2010.

YANG, Z. F.; BAI, L. P.; HUANG, W. B.; LI, X. Z.; ZHAO, S. S.; ZHONG, N. S.; JIANG, Z. H. Comparison of in vitro antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure–activity relationship analysis. **Fitoterapia**, v. 93, p. 47–53, 2014.

YI, H. W.; LU, X. M.; FANG, F.; WANG, J.; XU, Q. Astilbin inhibits the adhesion of T lymphocytes via decreasing TNF- α and its associated MMP-9 activity and CD44 expression. **International Immunopharmacology**, v. 8, p. 1467–1474. 2008.

YU, P. X.; ZHOU, Q. J.; ZHU, W. W.; WU, Y. H.; WU, L. C.; LIN, X.; CHEN, M. H.; QIU, B. T. Effects of quercetin on LPS-induced disseminated intravascular coagulation (DIC) in rabbits. **Thrombosis Research**, v. 131, p. 270–273, 2013.

YUENYONGSAWAD, S.; BUNLUEPUECH, K.; WATTANAPIROMSAKUL, C.; TEWTRAKUL, S. Anti-cancer activity of compounds from *Bauhinia strychnifolia* stem. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 150, p. 765–769, 2013.

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, 2001.

ZAAFAN, M. A.; ZAKI, H. F.; EL-BRAIRY, A. L.; KENAWY, S. A. Protective effects of atorvastatin and quercetin on isoprenaline-induced myocardial infarction in rats. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**, v. 51, p. 35–41, 2013.

ZAKARIA, Z. A.; WEN, L. Y.; RAHMAN, N. I. A.; AYUB, A. H. A.; SULAIMAN, M. R.; GOPALAN, H. K. Antinociceptive, Anti-Inflammatory and Antipyretic Properties of the Aqueous Extract of *Bauhinia purpurea* Leaves in Experimental Animals. **Medical principles and practice**, v. 16, p. 443–449, 2007.

ZAKARIA, Z. A.; ABDUL HISAM, E. E.; ROFIEE, M. S.; NORHAFIZAH, M.; SOMCHIT, M. N.; THE, L. K.; SALLEH, M. Z. In vivo antiulcer activity of the aqueous extract of *Bauhinia purpurea* leaf. **J Ethnopharmacol**, v. 137, n. 2, p. 1047–54, 2011.

ZAKARIA, Z. A.; ABDUL HISAM, E. E.; NORHAFIZAH, M.; ROFIEE, M. S.; OTHMAN, F.; HASIAH, A. H.; VASUDEVAN, M. Methanol extract of *Bauhinia purpurea* leaf possesses anti-ulcer activity. **Med Princ Pract**, v. 21, n. 5, p. 476-82, 2012.

ZHANG, Y.; LIU, D. Flavonol kaempferol improves chronic hyperglycemia-impaired pancreatic beta-cell viability and insulin secretory function. **European Journal of Pharmacology**, v. 670, p. 325–332, 2011.

ZHANG, Q. F.; GUO, Y. X.; SHANGGUAN, X.; ZHENG, G.; WANG, W. J. Antioxidant and anti-proliferative activity of Rhizoma *Smilacis Chinae* extracts and main constituents. **Food Chemistry**, v. 133, p. 140–145, 2012.

ZHANG, Q. F.; FU, Y. J.; HUANG, Z. W.; SHANGGUANG, X. C.; GUO, Y. X. Aqueous Stability of Astilbin: Effects of pH, Temperature, and Solvent. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 49, p. 12085–12091, 2013.

ZHANG, Q. F.; GUO, Y. X.; ZHENG, G.; WANG, W. J. Chemical constituents comparison between Rhizoma *Smilacis Glabrae* and Rhizoma *Smilacis Chinae* by HPLC-DAD-MS/MS. **Natural product research**, v. 27, n. 3, p. 277-281, 2013a.

ZHANG, Q. F.; NIE, H. C.; SHANGGUANG, X. C. YIN, Z. P.; ZHENG, G. D.; CHEN, J. G. Aqueous Solubility and Stability Enhancement of Astilbin through Complexation with Cyclodextrins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 61, p. 151–156. 2013b.

ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; HAN, B.; SUN, Q. Study on the constituents with anticancer activities of alkaloids from *Bauhinia variegata* L. **Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi**, v. 14, n. 3, p. 169-171, 2004a.

ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; SUN, Q. Isolation and identification of chemical constituents from *Bauhinia variegata* L. **Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi**, v. 14, n. 5, p. 294-297, 2004b.

ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; SUN, Q. S. A new phenanthraquinone from the stems of *Bauhinia variegata* L. **Journal of Asian Natural Products Research**, v. 7, n. 6, p. 835-838, 2005a.

ZHAO, Y.; CUI, C.; CAI, B.; SUN, Q. Chemical constituents from *Bauhinia variegata* L., **Zhongguo Yaowu Huaxue Zazhi**, v. 15, n. 5, p. 302-304, 2005b.

ZHAO, Y. Y.; CUI, C. B.; SUN, Q. S. Inhibitory effect on the proliferation of human chronic myeloid leukemia K562 cells of bauhinione from *Bauhinia variegata*. **Shenjiang Yaoke Daxue Xuebao**, v. 24, n. 2, p. 109-112, 2007.

ZHAO, Q. L.; WU, Z. B.; ZHENG, Z. H.; LU, X. H.; LIANG, H.; CHENG, W.; ZHANG, Q. Y.; ZHAO, Y. Y. Phenolic acid derivatives from *Bauhinia glauca* subsp. *pernervosa*. **Yao Xue Xue Bao**, v. 46, n. 8, p. 946-950, 2011.

ZHAO, D.; QIN, C.; FAN, X.; LI, Y.; GU, B. Inhibitory effects of quercetin on angiogenesis in larval zebrafish and human umbilical vein endothelial cells. **European Journal of Pharmacology**, v. 723, p. 360–367, 2014.

ZOU, S.; SHEN, X.; TANG, Y.; FU, Z.; ZHENG, Q.; WANG, Q. Astilbin Suppresses Acute Heart Allograft Rejection by Inhibiting Maturation and Function of Dendritic Cells in Mice. **Transplantation Proceedings**, v. 42, p. 3798–3802, 2010.

ZUANAZZI, J. A. S.; MONTANHA, J. A. Flavonoides. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia, da planta ao medicamento**. 5a ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, Florianópolis: Editora da UFSC, p. 577-614, 2003.

ANEXO 1 APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)



Nº 711

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, instituído pela PORTARIA Nº 787/03-BL, de 11 de junho de 2003, com base nas normas para a constituição e funcionamento da CEUA, estabelecidas pela RESOLUÇÃO Nº 01/03-BL, de 09 de maio de 2003 e considerando o contido no Regimento Interno da CEUA, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado, estão de acordo com os princípios éticos estabelecidos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e exigências estabelecidas em "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

CERTIFICATION

The Ethics Animal Experiment Committee of the Setor de Ciências Biológicas of the Federal University of Paraná, established by the DECREE Nº 787/03-BL on June 11th 2003, based upon the RESOLUTION Nº 01/03-BL from May 9th 2003, and upon the CEUA internal regiment, CERTIFIES that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the ethical principals established by the Experimental Animal Brazilian Council (COBEA), and with the requirements of the "Guide for the Care and Use of Experimental Animals (Canadian Council on Animal Care)".

PROCESSO: 23075.018735/2013-44

APROVADO: 20/06/2013 – R.O. 05/2013

TÍTULO: Avaliação da atividade antinociceptiva e antiinflamatória do extrato bruto das folhas de *Bauhinia unguolata* L.

AUTORES: Joice Maria da Cunha, Cristiane da Silva Paula, Beatriz Cristina K. Hirota, Anne Karoline Schreiber

DEPARTAMENTO: Farmacologia


 Prof. Dr. Aleksander Roberto Zamprônio
 Coordenador da CEUA

ANEXO 2**APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA CEP/SD 1033.158.10.11**

Ministério da Educação
Universidade Federal do Paraná
Setor de Ciências da Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa



Curitiba, 01 de fevereiro de 2011

Ilmo (a) Sr. (a)
Obdulio Gomes Miguel
Josiane de Fátima Gaspari Dias

Nesta

Prezado(a) Pesquisador(a),

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado "**Estudo de produtos naturais sobre a função dos neutrófilos humanos**" está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução CNS 196/96, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, em reunião realizada no dia 01 de dezembro de 2010 e apresentou pendência(s). Pendência(s) apresentada(s), documento(s) analisado(s) e projeto aprovado em 01 de fevereiro de 2011.

Registro CEP/SD: 1033.158.10.11

CAAE: 0090.0.091.000-10

Conforme a Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do relatório final ou parcial: 01/08/2011.

Atenciosamente

Prof. Dr. Ida Cristina Gubert
Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde

ANEXO 3

AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS

**AUTORIZAÇÃO DAS ATIVIDADES DE ACESSO AO PATRIMÔNIO
GENÉTICO REALIZADA DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO CGEN Nº35,
DE 27 DE ABRIL DE 2011
Nº 03/2014**

O INSTITUTO BRASILEIRO DO MEIO AMBIENTE E DOS RECURSOS NATURAIS RENOVÁVEIS, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 40, de 24 de setembro de 2003, para autorizar instituição nacional, pública ou privada, que exerça atividade de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, **autoriza** com amparo na Resolução CGEN nº 35, de 27 de abril de 2011, que dispõe sobre regularização de atividades de acesso ao patrimônio genético e/ou ao conhecimento tradicional associado e sua exploração econômica realizadas em desacordo com a Medida Provisória no 2.186-16, de 23 de agosto de 2001 e demais normas, as **atividades de acesso ao patrimônio genético desenvolvidas pela:**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ, CNPJ/MF nº. 75.095.679/0001-49, situada na Rua XV de Novembro, 1299, Curitiba-PR, CEP: 80060-000, e representada na pessoa do Reitor Zaki Akel Sobrinho, RG nº. 1.439.536-9 SSP/PR, CPF nº. 359.063.759-53, no âmbito das atividades do projeto de pesquisa "*Estudo Químico e Biológico das Espécies Vegetais*".

Objetivo da Autorização: Avaliar sob aspecto morfoanatômico, químico e biológico das espécies acessadas constantes do projeto de pesquisa.

Período das atividades: 2000 a 2019.

Validade da Autorização: Cinco anos, contados da assinatura. Em razão da continuidade do projeto de pesquisa, a instituição detentora desta autorização deverá enviar ao Ibama, a partir da emissão da licença, **relatório anual** sobre a execução das atividades de pesquisa, nos termos do Decreto nº 4.946/2003 e Resolução CGEN nº 41/2013. Endereço para envio do relatório: IBAMA/DBFLO, SCEN L4 Norte, Bloco B, Brasília-DF, CEP: 70818-900.

Esta autorização das atividades de acesso está vinculada às informações e termos assinados pelo requerente, constantes do processo nº 02001.001165/2013-47.

Brasília, 17 de março de 2014.

Volney Zanardi Junior
Presidente