

**FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DO ALTO SÃO
FRANCISCO
CURSO DE QUÍMICA**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE E
CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS FRAÇÕES
CROMATOGRÁFICAS E EXTRATO ETANÓLICO DAS
FOLHAS DE *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steudel**

Autora: Alda Ernestina dos Santos

Orientadora: Alessandra Duarte

Co-Orientador: Wilton José Ferreira

Luz – Minas Gerais – Brasil

Novembro de 2008

Alda Ernestina dos Santos

Avaliação do potencial antioxidante e caracterização química das frações cromatográficas e extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steudel

Trabalho apresentado ao Departamento de Química da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras do Alto São Francisco - FASF, como parte das exigências do curso de Graduação em Química, para a obtenção do título de licenciado em Química.

Área de Concentração: Química dos Produtos Naturais

Orientador

Prof^ª. Alessandra Duarte

Co-Orientador

Prof. Wilton José Ferreira

Luz
Minas Gerais – Brasil
2008

54

S237A Santos, Alda Ernestina dos.

Avaliação do potencial antioxidante e caracterização química das frações cromatográficas e extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* (Bong.) / Alda Ernestina dos Santos. – Luz : FASF, 2008.

107 p. : il.

ISBN

1. Química. 2. CG-EM. I. Título.


CDU: 54

Alda Ernestina dos Santos

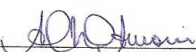
**Avaliação do potencial antioxidante e caracterização química das frações
cromatográficas e extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* (Bong.)
Steudel**

Monografia apresentada ao
Departamento de Química da
Faculdade de Filosofia Ciências e
Letras do alto São Francisco - FASF,
como parte das exigências do Curso de
Graduação em química para obtenção
do título de licenciado em Química.


Aprovada em: 22 de novembro de 2008.



Prof. Wilton José Ferreira - UFF
Mestrado em Biotecnologia
Doutorando em Química Orgânica
(Co-orientador)



Prof. Ana Carolina Lourenço Amorim - UFRJ
Doutorado em Química Orgânica
Mestrado em Agronomia



Prof. Alessandra Duarte - FASF
Mestre em Ciências Biológicas
(orientadora)

À memória de minha avó Ernestina
Às minhas tias Fátima e Perpétua
Ao meu pai Romeu
À minha prima Regina

AGRADECIMENTOS

À toda minha família pela confiança e incentivo constante durante os quatro anos da graduação, em especial à minha tia Fátima (Tia Cum), minha avó Ernestina, meu Pai Romeu, minha tia Perpétua e minha prima Regina, que foram minha base familiar e financeira.

Aos meus professores e orientadores Alessandra Duarte e Wilton Ferreira, pela orientação e apoio permanente, sem os quais a realização deste trabalho seria impossível.

À Wilton Ferreira pela oportunidade de realizar os experimentos nos laboratórios da UFF e UFRJ, em especial pelas análises de CG-EM.

À Adriana Duarte por ter me recebido em sua casa no Rio de Janeiro durante a realização dos experimentos, e férias também.

À bioquímica Carmelita Gomes da Silva pela realização dos ensaios antioxidantes.

Ao professor Dênis Coelho pela boa vontade em providenciar a identificação botânica da espécie estudada.

Aos meus companheiros de coleta das folhas de Pata-de-Vaca, amigos e sempre presentes Lucas Paolinelli e Vinícius Paolinelli.

Ao meu tio José Maria pelo lanche diário na faculdade e minha prima Mônica pelo apoio e amizade.

Aos meus amigos e companheiros de sala Amanda Couto, Gilmar Gonçalves e Sandra Resende pela amizade incondicional.

Às amigas sempre presentes Daiane Angélica, Gabriela Paulinelli, Luana Sousa e Mariana Pereira pela amizade.

À todos aqueles que de maneira direta ou indireta contribuíram para a realização deste trabalho.

À Deus por ter colocado todas essas pessoas maravilhosas em meu caminho.

*“O segredo não é correr atrás das borboletas, e sim cuidar do jardim
para que elas venham até você.”*

Friedrich Nietzsche

Sumário

1- INTRODUÇÃO.....	1
1.1 - Objetivos.....	3
1.2 - Justificativa.....	4
2 - REFERENCIAL TEÓRICO.....	5
2.1 - Os vegetais como fonte de compostos biologicamente ativos.....	5
2.2 - Metabolismo secundário vegetal.....	9
2.2.1 - Flavonóides.....	13
2.2.2 - Alcalóides.....	19
2.2.3 - Óleos Voláteis.....	25
2.2.4 - Cumarinas, Cromonas e Xantonas.....	28
2.2.5 - Quinonas.....	30
2.2.6 - Taninos.....	31
2.2.7 - Saponinas.....	33
2.2.8 - Ligninas e lignanas.....	35
2.2.9 - Compostos fenólicos simples e heterosídicos.....	36
2.2.10 - Heterosídeos cardioativos.....	37
2.2.11 - Compostos Sulfurados.....	38
2.3 - Análise fitoquímica.....	40
2.3.1 - Técnicas Instrumentais de emprego na análise fitoquímica.....	43
2.3.1.1 - Cromatografia.....	44
2.3.1.2 - Cromatografia Gasosa.....	45
2.3.1.3 - Cromatografia líquida em coluna.....	46
2.3.1.4 - Cromatografia líquida de alta eficiência.....	47
2.3.1.5 - Cromatografia em camada delgada.....	49
2.3.1.6 - Espectrometria de massa atômica.....	50
2.3.1.7 - Espectroscopia no infravermelho.....	51
2.3.1.8 - Espectroscopia no ultravioleta-visível.....	52
2.3.1.9 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear.....	54
2.4 - Revisão de estudos com espécies do gênero <i>Bauhinia</i>	56

2.4.1 – Estudos farmacológicos.....	56
2.4.2 – Estudos fitoquímicos.....	59
2.4.3 – Estudos avaliando o potencial antioxidante.....	70
2.5 – Estudos com <i>Bauhinia longifolia</i>	73
3 – METODOLOGIA.....	74
3.1 - Identificação botânica e herborização da espécie estudada.....	74
3.2 – Coleta das Folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	74
3.3 – Secagem e processamento das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	74
3.4 – Processo de extração.....	75
3.5 – Concentração à pressão reduzida do extrato etanólico das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	75
3.6 – Cromatografia líquida em coluna.....	75
3.7 – Cromatografia em camada delgada.....	75
3.8 – Avaliação do potencial antioxidante das frações cromatográficas e extrato etanólico das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	76
3.9 – Análise por cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa.....	76
4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	78
4.1 – Aspectos botânicos.....	78
4.2 – Processo de extração e fracionamento cromatográfico.....	80
4.3 - Avaliação qualitativa da atividade antioxidante.....	82
4.4 - Caracterização química por CG-EM das frações ativas.....	86
5 – CONCLUSÃO.....	92
6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

Lista de Figuras

FIGURA 1: Estrutura da morfina, um alcalóide.....	5
FIGURA 2: Estrutura do paclitaxel e da camptotecina.....	6
FIGURA 3: Origem biossintética dos metabólitos secundários.....	10
FIGURA 4: Fatores ambientais que interferem na produção de metabólitos secundários..	12
FIGURA 5: Núcleo fundamental dos flavonóides.....	13
FIGURA 6: Estrutura da 3-hidróxi-2-fenilcromona, apigenina e luteolina.....	14
FIGURA 7: Estrutura da vitexina.....	14
FIGURA 8: Núcleo fundamental dos antocianos e estrutura da malvidina.....	15
FIGURA 9: Núcleo fundamental das chalconas e estrutura da ocanina.....	15
FIGURA 10: Núcleo fundamental das auronas e estrutura da sulfuretina.....	16
FIGURA 11: Núcleo fundamental das flavanonas , flavanonóis e di-hidrochalconas.....	16
FIGURA 12: Estrutura básica das isoflavonas, dos rotenóides e dos pterocarpanos.....	17
FIGURA 13: Estrutura básica das 4-arilcumarinas, 3-arilbenzofuranos e dalbergionas.....	17
FIGURA 14: Estrutura básica das amentoflavonas e agatisflavonas.....	18
FIGURA 15: Estrutura da quercitrina , quercetina e 5,7,3'-triidróxi-3,6,4'- trimetóxi-flavona.....	19
FIGURA 16: Estrutura da galantamina.....	20
FIGURA 17: Estrutura da escopolamina e da cocaína.....	23
FIGURA 18: Estrutura dos alcalóides indólicos harmina, elipticina e iombina.....	24
FIGURA 19: Estrutura do retronecanol, lasiocarpina e danaidona.....	24
FIGURA 20: Estrutura dos alcalóides esteroidais solasodina, tomatidina e solanidina.....	25
FIGURA 21: Estrutura do ácido cinâmico, um fenilpropanóide.....	25
FIGURA 22 : Exemplos de terpenóides: tujona, fenchona, cânfora, limoneno e mentol....	28
FIGURA 23: Estruturas básicas das cumarinas , cromonas e xantonas.....	28
FIGURA 24: Furanocumarina ligada à base timina.....	29
FIGURA 25: Estrutura da furanocromona quelina.....	29
FIGURA 26: Estrutura básica das benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas.....	30
FIGURA 27: Estrutura da hipericina e da alizarina.....	31
FIGURA 28: Estrutura básica dos taninos condensados.....	32

FIGURA 29: Estruturas do hamamelitanino e da pedunculagina.....	32
FIGURA 30: Núcleo dos tipos espirostano e lupeol.....	34
FIGURA 31: Estrutura da glicirrizina.....	34
FIGURA 32: Estrutura do pinoresinol e do ácido nordi-hidroguaiarético.....	35
FIGURA 33 : Estrutura dos ácidos benzóico, gálico e elágico.....	36
FIGURA 34 : Estrutura dos ácidos p-cumárico, caféico e ferúlico.....	37
FIGURA 35 : Núcleo esteroidal tetracíclico dos heterosídeos cardioativos.....	38
FIGURA 36 : Estrutura da digoxina.....	38
FIGURA 37 : Transformação da sinigrina em ácido tiociânico.....	39
FIGURA 38 : Estrutura da aliina e alicina.....	40
FIGURA 39 : Principais solventes e classes de metabólitos extraídas.....	42
FIGURA 40: Cromatograma obtido por cromatografia gasosa de uma mistura de β -friedelinol e friedelina isolados das folhas de <i>Maytenus acanthophylla</i> e seus respectivos padrões.....	45
FIGURA 41 : Componentes básicos de um cromatógrafo gasoso.....	46
FIGURA 42 : Cromatograma de padrões dos flavonóides, campferitrina, quercetina, canferol e 3,7-di- <i>O</i> - α -L-ramnopiranosil quercetina.....	48
FIGURA 43 : Cromatograma do extrato aquoso das folhas de <i>Bauhinia forficata</i>	48
FIGURA 44: Placa de CCD antes e após a eluição.....	49
FIGURA 45: Placa de CCD de extratos brutos vegetais.....	50
FIGURA 46: Cromatograma obtido por CLAE com detector UV para o extrato hidroetanólico das folhas de <i>Bauhinia microstachya</i>	53
FIGURA 47: Espectro de RMN de H^1 da apigenina.....	55
FIGURA 48: Espectro de RMN de C^{13} da apigenina.....	55
FIGURA 49: Estrutura do 5,6-dihidróxi-7-metóxi-6- <i>O</i> - β -D-xilopiranosídeo.....	59
FIGURA 50: Estrutura da flavanona e dihidrodibenzoxepina isoladas das raízes de <i>Bauhinia variegata</i>	60
FIGURA 51: Estrutura da luteolina 4'- <i>O</i> - β -D-glucopiranosídeo e do ácido indol-3-carboxílico.....	60
FIGURA 52: Estrutura dos aminoácidos metionina, leucina e prolina.....	61

FIGURA 53: Estrutura dos flavonóides canferol e 7-O- α -L-ramnopiranosilcanferol isolados das folhas e flores de <i>Bauhinia forficata</i> respectivamente.....	61
FIGURA 54: Estrutura dos flavonóis quercetina-3-arabinosídeo e isoramnetina-3-glucosídeo isolados das folhas de <i>Bauhinia unguolata</i> e <i>Bauhinia pentandra</i> respectivamente.....	62
FIGURA 55: Estrutura do galato de metila e hexatriacontano.....	62
FIGURA 56: Estrutura do monoterpeneo α -pineno e do sesquiterpeneo β -cariofileno.....	63
FIGURA 57: Estrutura dos alcalóides harmano e eleagnina.....	63
FIGURA 58: Estrutura da campferitrina.....	64
FIGURA 59: Estrutura dos flavonóis 6,8-di-C-metilcanferol-3-metil éter e afzelina.....	65
FIGURA 60: Estrutura do ácido gálico e da catequina.....	66
FIGURA 61: Estrutura do estigmasterol e do ácido glutâmico.....	66
FIGURA 62: Estrutura da bauhinoxepina e do bauhinol E.....	67
FIGURA 63: Estrutura dos ácidos linoléico e palmítico.....	68
FIGURA 64: Estrutura da pacharina e da bauhiniastatina 1.....	68
FIGURA 65: Estrutura do antociano delphinidina.....	69
FIGURA 66: Estrutura do isoacteosídeo.....	70
FIGURA 67: Estrutura do galactosídeo de quercetina e ramnosídeo de miricetina isolados das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	73
FIGURA 68: Fluxograma da metodologia empregada.....	77
FIGURA 69: Folha de <i>Bauhinia longifolia</i>	78
FIGURA 70: <i>Bauhinia longifolia</i> em fase de floração.....	79
FIGURA 71: Frações cromatográficas obtidas pelo agrupamento de acordo com o perfil cromatográfico por CCD.....	82
FIGURA 72: Análise qualitativa da atividade antioxidante das amostras de 1 à 9.....	83
FIGURA 73: Análise qualitativa da atividade antioxidante das frações 10 à 19.....	84
FIGURA 74: Cromatograma obtido para a fração número 3.....	86
FIGURA 75: Espectro de massa do composto referente ao (+) – espatulenol.....	87
FIGURA 76: Cromatograma obtido para a fração número 5.....	87
FIGURA 77: Espectro de massa do composto α – tocoferol.....	88
FIGURA 78: Cromatograma obtido para a fração número 8.....	89

FIGURA 79: Espectro de massa do diterpeno fitol.....	90
FIGURA 80: Cromatograma obtido para a fração número 12	90
FIGURA 81: Espectro de massa do composto (22R,24S) - 22,24 – dimetilcolesterol.....	91

Lista de Tabelas

TABELA 1: Intervalo de frequência de absorção de alguns grupos funcionais no IV.....	52
TABELA 2: Rendimento dos processos de extração e fracionamento cromatográfico.....	80
TABELA 3 : Massa e rendimento das frações obtidas pelo fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	81
TABELA 4: Resultados da análise qualitativa da atividade antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico das folhas de <i>Bauhinia longifolia</i>	85
TABELA 5: Compostos majoritários caracterizados por CG-EM das amostras com potencial antioxidante.....	91

Lista de Quadros

QUADRO 1: Classes de alcalóides derivados de aminoácidos.....	21
QUADRO 2 : Classes de terpenóides.....	27

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

$\mu\text{g/mL}$ - Micrograma por Mililitro

μm - Micrômetro

$^{\circ}\text{C}$ - Graus Celsius

ABS - Absorbância

AcOEt - Acetato de Etila

BLC1FR - Fração obtida pelo fracionamento cromatográfico do extrato bruto das folhas de *Bauhinia longifolia*

BuOH - Butanol

$\text{C}_6\text{-C}_3$ - Unidade Fenilpropânica

C^{13} - Carbono com 13 prótons

CaCO_3 - Carbonato de Cálcio

CeSO_4 - Sulfato Cérico

CI_{50} - Concentração Inibitória à 50 $\mu\text{g/ml}$

CCD - Cromatografia em Camada Delgada

CG-EM - Cromatografia Gasosa acoplado à Espectrometria de Massa

CIT/SC - Centro de Informações Toxicológicas de Santa Catarina

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

CLAE-UV - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplado à Ultravioleta

cm – Centímetro

COX – Ciclooxigenase

DCM – Diclorometano

DNA - Ácido Desoxirribonucléico

DPPH - 1,1-diphenil-2-picrylhydrazil

EBFBL - Extrato Bruto das Folhas de *Bauhinia longifolia*

EEF - Extrato Etanólico das Folhas

EtOH – Etanol

eV - Elétron volts

g - Grama

H¹ - Núcleo de Hidrogênio
HEX - Hexano
HSCN - Àcido tiociânico
ICB - Instituto de Ciências Biológicas
IV – Infravermelho
m - Metro
m/z - Razão massa-carga
mg/kg - Miligrama por Quilograma
mL - Mililitro
mm - Milímetro
mM - Micro Molar
MAO - Monoamino-oxidase
MeOH – Metanol
Min - Minuto
NCI - National Cancer Institute
nm - Nanômetro
OH⁻ - Íon Hidroxila
PAL - Phenilalanine Amonium Liase
ppm - Partes por Milhão
pH - Potencial Hidrogeniônico
Rt – Tempo de Retenção
Rf - Fator de Retenção
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
RNA - Ácido Ribonucléico
s - Segundo
SNC - Sistema Nervoso Central
SUS - Sistema Único de Saúde
UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais
UV - Ultravioleta
v/v - Volume por volume

Resumo: As espécies do gênero *Bauhinia* são de grande interesse terapêutico, sendo várias atividades biológicas a elas atribuídas. *Bauhinia longifolia* é uma espécie com poucos estudos científicos publicados. No presente trabalho o potencial antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* foi avaliado frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH). Oito amostras apresentaram atividade antioxidante, a caracterização química destas por CG-EM revelou a presença dos terpenos (+) – espatulenol e fitol, o lipídio 22,24-dimetilcolesterol e o caroteno α – tocoferol, uma vitamina do complexo E, tal composto foi isolado. A atividade antioxidante de *Bauhinia longifolia* sobre o DPPH pode ser atribuída à presença dos metabólitos caracterizados, tal espécie mostrou-se uma interessante fonte de substâncias antioxidantes.

Palavras-chave: Potencial antioxidante, *Bauhinia longifolia*, caracterização química, CG-EM.

Abstract: The species of the genus *Bauhinia* have a great therapeutic interest, being several biological activities attributed to them. *Bauhinia longifolia* is a specie with few scientific studies published. In the present work the antioxidant potential of the chromatographic fractions and of the ethanolic extract of the leaves of *Bauhinia longifolia* was evaluated on the 1,1-diphenil-2-picrylhydrazil (DPPH) radical. Eight samples presented antioxidant activity, the chemical characterization of these for GC-MS revealed the presence of the terpenos (+) spathulenol and phytol, the lipid 22,24-dimethylcholesterol and the carotene α - tocopherol, a vitamin of the complex E, this compound was isolated. The antioxidant activity of *Bauhinia longifolia* on the DPPH can be attributed to the presence of the compounds characterized, such specie was shown an interesting source of antioxidant substances.

Key-words: Antioxidant potencial, *Bauhinia longifolia*, chemical characterization, GC-MS.

1 - INTRODUÇÃO

Os vegetais representam grande importância, sendo a base da cadeia alimentar, além de produtores do oxigênio necessário ao processo de respiração de todos os organismos aeróbicos. Tanta importância atribuída aos vegetais se deve a sua capacidade em realizar o processo de fotossíntese (RAVEN *et al.*, 2001).

Algumas espécies vegetais são também de grande interesse terapêutico, visto que produzem substâncias que são biologicamente ativas, sendo por esse motivo empregadas no tratamento de diversas enfermidades (PEDROSA, YUNES & CECHINEL FILHO, 2001).

Desde a antiguidade as plantas vêm sendo utilizadas como recurso terapêutico, sendo em muitas das vezes o único recurso disponível à população, principalmente de países subdesenvolvidos (PINTO *et al.*, 2004).

Apesar do grande desenvolvimento tecnológico atual o qual tem permitido a síntese de fármacos cada vez mais eficazes, o uso de plantas medicinais (como são conhecidas popularmente) se faz ainda presente no cotidiano de várias pessoas (VEIGA JUNIOR, PINTO & MACIEL, 2005).

Dentre as atividades biológicas atribuídas a certas espécies vegetais e de interesse à indústria farmacêutica cita-se: hipoglicemiante, hipocolesterolemizante, analgésica e antioxidante, sendo esta última determinante no processo de evolução de doenças como o diabetes e o câncer (DAMASCENO *et al.*, 2002) sendo freqüente a realização de estudos científicos nos quais o potencial antioxidante de espécies vegetais é avaliado.

A realização de estudos com espécies vegetais é de extrema importância devido ao grande emprego destas, e permite validar e assegurar seu uso correto, sendo os conhecimentos científico e popular complementares (SIXEL & PECINALLI, 2005).

Dentre as espécies vegetais largamente utilizadas com finalidade terapêutica cita-se as espécies do gênero *Bauhinia* as quais são empregadas principalmente no tratamento do diabetes, sendo sua atividade hipoglicemiante comprovada em vários estudos (da SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002).

Devido à presença de flavonóides em diversas espécies do gênero *Bauhinia* (PIZZOLATTI *et al.*, 2003) e o potencial destes como antioxidantes, muitas destas estão sendo avaliadas em ensaios antioxidantes, tendo sido satisfatórios os resultados obtidos.

Bauhinia longifolia, uma espécie do gênero *Bauhinia*, foi foco do presente estudo no qual o potencial antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico de suas folhas foi avaliado.

1.1 - OBJETIVOS

Geral

Avaliar o potencial antioxidante do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia*, bem como das frações obtidas pelo seu fracionamento cromatográfico.

Específicos

- I) Fracionar o extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* utilizando a cromatografia líquida em coluna;
- II) Testar o potencial antioxidante do extrato etanólico e das frações obtidas;
- III) Caracterizar as frações que apresentarem atividade antioxidante, utilizando a cromatografia em fase gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM).

1.2 - JUSTIFICATIVA

Considera-se de grande importância a realização do presente estudo devido aos seguintes fatores:

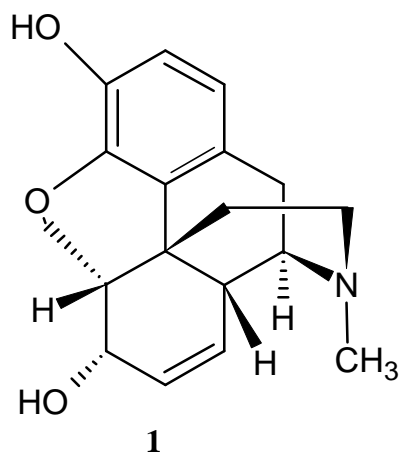
- I) Grande interesse científico das espécies do gênero *Bauhinia*;
- II) *Bauhinia longifolia* ser uma espécie com poucos estudos científicos publicados;
- III) A pequena quantidade de estudos que correlacionem os compostos químicos isolados de espécies do gênero *Bauhinia* e suas respectivas atividades biológicas;
- IV) A importância da busca por substâncias com potencial antioxidante.

2 – REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - Os vegetais como fonte de compostos biologicamente ativos

Do metabolismo vegetal resulta uma variedade enorme de substâncias que em muitas das vezes exercem alguma atividade biológica sobre o organismo, como é observado no caso da morfina (1) que é um alcalóide que atua sobre o sistema nervoso central provocando reações alucinógenas, além de atuar como analgésico (PEREDA-MIRANDA, TAKETA & VILLATORO-VERA, 2007).

Segundo Nordari & Guerra (2007) devido à grande diversidade vegetal é grande a possibilidade de obtenção de produtos de interesse terapêutico. Substâncias que atuam sobre o organismo causando algum tipo de reação são denominadas “biologicamente ativas” e são em muitos casos empregadas como recurso terapêutico no tratamento de enfermidades diversas.



Fonte: Pereda-Miranda, Taketa & Villatoro-Vera, 2007.

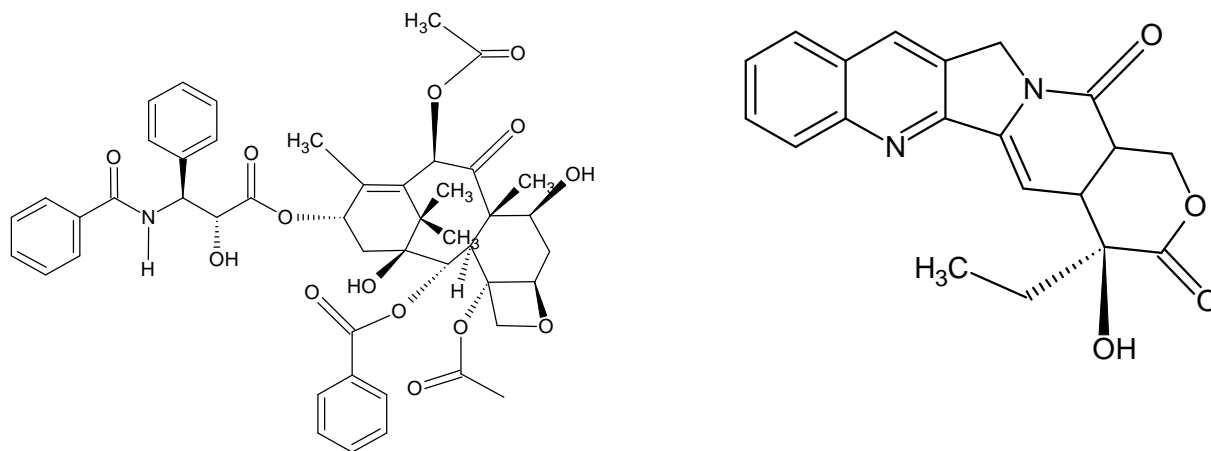
FIGURA 1 : Estrutura da morfina, um alcalóide.

Devido à essa variedade de substâncias oriundas do metabolismo dos vegetais estes têm sido frequentemente utilizados como fonte de compostos biologicamente ativos, conforme é apontado por da Silva & Cechinel-Filho (2002), cerca de 25% dos fármacos empregados na terapêutica são de origem vegetal sendo o restante de origem sintética e destes, 50% relacionados aos princípios isolados de vegetais.

Segundo Pedrosa, Yunes & Cechinel-Filho (2001) comumente compostos biologicamente ativos isolados de vegetais são empregados como protótipos para a síntese química de fármacos. Diversos são os princípios ativos isolados de vegetais que após a síntese química e modificação estrutural passam a ser utilizados como fármacos, como exemplo cita-se o ácido salicílico extraído do salgueiro (*Salix alba*) que através da modificação estrutural onde é acrescentado um grupo acetil torna-se o ácido acetil salicílico o primeiro fármaco sintético e mais bem sucedido comercialmente.

Mesmo com o grande avanço de áreas como a química orgânica e a biologia molecular que contribuem significativamente na síntese de fármacos, observa-se ainda vários fármacos obtidos a partir de matérias-primas vegetais, dentre estes a digoxina obtida de *Digitalis purpurea*, a atropina obtida de *Atropa belladonna* e a vincristina e vimblastina obtidas de *Catharanthus roseus* (SCHENKEL, GOSMANN & PETROVICK, 2007).

O interesse farmacêutico dos vegetais é enorme, sendo assim, estudos com espécies vegetais que possivelmente produzam compostos biologicamente ativos são muito freqüentes, em especial os *screenings*, nos quais são avaliadas milhares de espécies, tais estudos contribuem para a descoberta de novos princípios ativos os quais podem vir a se tornar fármacos bem sucedidos, como exemplo cita-se o importante trabalho desenvolvido por pesquisadores do National Cancer Institute (NCI) dos Estados Unidos que descobriram duas substâncias com potencial ação sobre o câncer, tais compostos foram denominados paclitaxel (2) e camptotecina (3) e foram isoladas das espécies *Taxus brevifolia* e *Camptotheca acuminata* respectivamente (BARREIRO & FRAGA, 2008).



Fonte: Barreiro & Fraga, 2008.

FIGURA 2: Estrutura do paclitaxel e da camptotecina.

As plantas são largamente empregadas na medicina popular sendo em muitas das vezes o único recurso terapêutico do qual a população dispõe, o que se deve à fácil obtenção das mesmas, porém na maioria das vezes estas são empregadas indiscriminadamente e com pouca ou nenhuma comprovação científica de sua atividade. O fato de os metabólitos vegetais serem de origem natural leva a um equivocado pensamento de que os mesmos não são tóxicos ao organismo, no entanto a toxicidade de plantas medicinais é um caso de saúde pública e deve ser encarado como tal, como exemplo da toxicidade provocada por vegetais cita-se o efeito hepatotóxico e carcinogênico causado pelo uso interno do confrei (*Symphytum officinale*) (VEIGA-JÚNIOR, PINTO & MACIEL, 2005).

Casos de intoxicação com vegetais são mais freqüentes do que se imagina, conforme é apontado por Schenkel *et al.* (2007), entre o mês de maio do ano de 1984 ao mês de dezembro do ano de 1997 no Centro de Informações Toxicológicas de Santa Catarina (CIT/SC) foram registrados 691 casos de intoxicação com espécies vegetais, número que acredita-se ser bem maior, visto que muitos casos de intoxicações não são levados aos hospitais, dentre as espécies envolvidas em casos de intoxicação as mais freqüentes são as espécies do gênero *Dieffenbachia* conhecidas popularmente por comigo-ninguém-pode.

À prática na qual as plantas são utilizadas como recurso terapêutico dá-se o nome de fitoterapia, uma prática terapêutica complementar em expansão no Brasil sendo inclusive implantada no sistema público de saúde de várias cidades, Araújo (2002) cita a bem sucedida implantação da fitoterapia no Sistema Único de Saúde (SUS) da cidade de Londrina no estado do Paraná.

O Brasil, país com maior biodiversidade vegetal do mundo (DIAS, 1996) esperaria-se que fosse um dos países de maior destaque na produção de medicamentos à base de vegetais (fitoterápicos), porém tal fato não é observado segundo Pedrosa, Yunes & Cechinel Filho (2001) devido à falta de incentivo político e financeiro, falta de interação de diferentes áreas do conhecimento, que é necessário no desenvolvimento de pesquisas e a filosofia de algumas indústrias nacionais que visam primariamente o lucro imediato e não a competitividade à nível internacional, levando ao fraco desempenho do país no mercado fitoterápico mundial.

O desempenho crítico do Brasil no mercado farmacêutico mundial é retratado por Bermudez (1995) que aponta que cerca de 84 % dos fármacos comercializados no país são importados e que 78% da produção brasileira é feita por multinacionais.

Para que um fitoterápico seja bem utilizado é necessário ter sua eficácia, segurança e qualidade validadas, o que segundo Sixel & Pecinalli (2005) pode ser conseguido com a realização de estudos farmacológicos. Porém observa-se que o uso de fitoterápicos no Brasil se dá predominantemente no uso popular das plantas medicinais que são frequentemente comercializadas sem o padrão de qualidade exigido, principalmente em feiras e mercados populares, além disso, a maioria das plantas utilizadas trata-se de espécies exóticas as quais são desconhecidas dos povos ocidentais (VEIGA JUNIOR, PINTO & MACIEL, 2005; PEDROSA, YUNES & CECHINEL FILHO, 2001).

Segundo Bara *et al.* (2006) é comum o comércio de espécies vegetais sob diferentes formas, desde pó à soluções hidroalcoólicas (tinturas), porém sem a devida padronização, sendo freqüente produtos que apresentam teores de princípios ativos abaixo do padrão estabelecido, o que compromete sua eficácia, sendo assim a realização da análise do teor de princípios ativos de vegetais é de grande importância afim de validar sua segurança e eficiência enquanto produto farmacêutico. O extrato padronizado de *Ginkgo biloba* é o fitoterápico mais vendido no mundo (PINTO *et al.*, 2004), tal espécie apresenta flavonóides como princípio ativo, a análise de 13 (treze) amostras comerciais desta espécie quanto ao teor de flavonóides revelou que apenas 3 (três) mostraram-se dentro do padrão estabelecido, as amostras restantes mostraram um teor de flavonóide abaixo do estabelecido pela legislação (BARA *et al.*; 2006).

Dentre os fatores que interferem na qualidade das matérias-primas vegetais cita-se a incorreta realização das etapas do processamento destas, etapas como a coleta, secagem e armazenamento dos vegetais devem ser realizadas seguindo-se alguns cuidados e orientações, como exemplo cita-se a coleta de espécies ricas em óleos voláteis e alcalóides que deve ser realizada no período da manhã e espécies ricas em glicosídeos no período da tarde (REIS & MARIOT, 2000) e a secagem de espécies ricas em cumarinas que deve ser realizada à sombra devido a fototoxicidade destas (KUSTER & ROCHA, 2007). A realização incorreta de uma ou mais etapas do processamento do material vegetal pode levar ao comprometimento de sua qualidade e eficácia.

2.2 - Metabolismo Secundário Vegetal

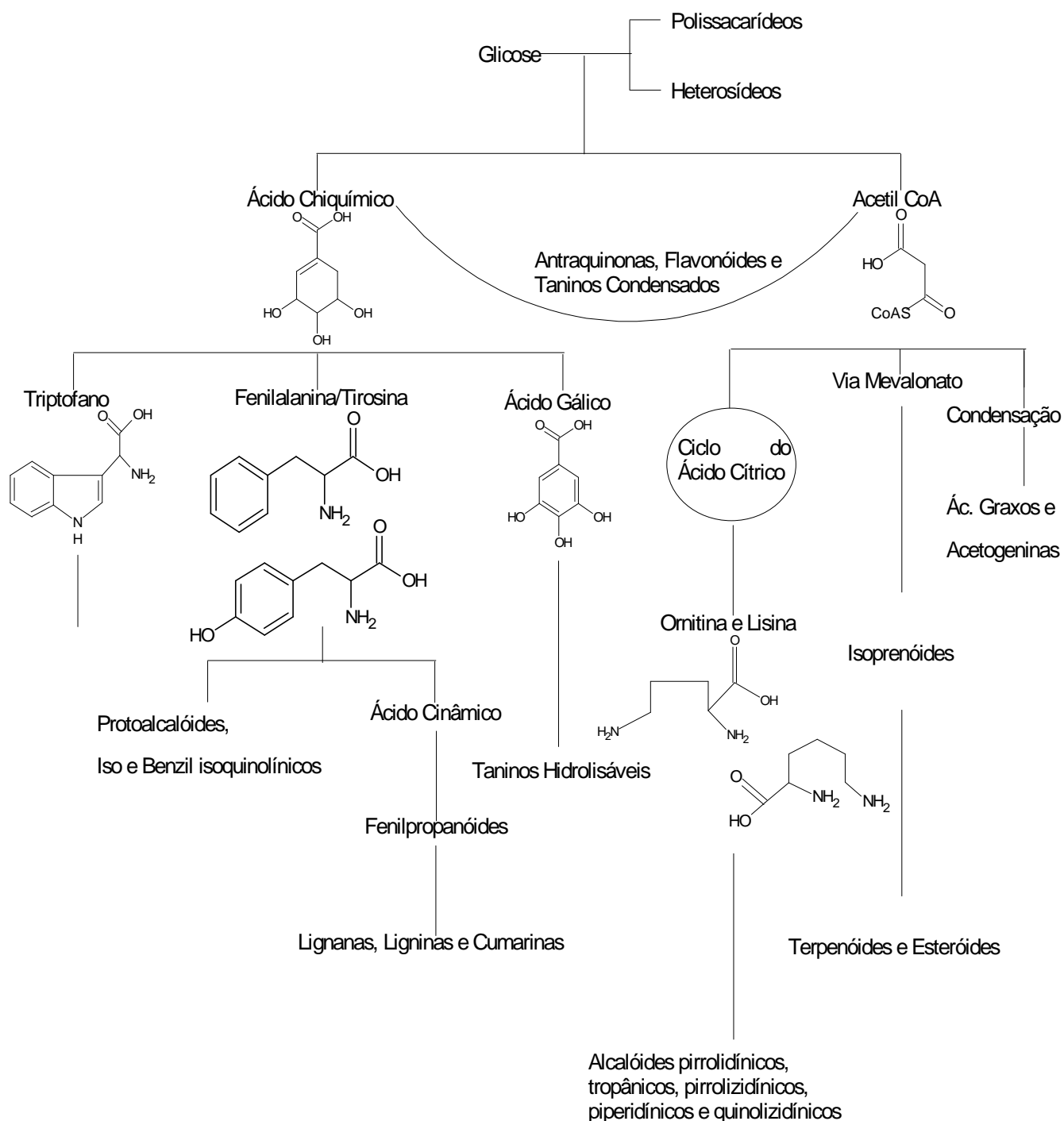
Todas as espécies vegetais através do processo da fotossíntese produzem substâncias, como os carboidratos, as proteínas, os ácidos nucleicos e os lipídios, estas substâncias são resultantes do metabolismo primário e são necessárias à sobrevivência do vegetal. Além das macromoléculas sintetizadas pelos vegetais, há também uma gama de substâncias as quais não estão diretamente ligadas à sobrevivência destes mas são de extrema importância sendo responsáveis pela interação ecológica do vegetal com outros organismos, essas substâncias são resultantes do chamado metabolismo secundário e desempenham diferentes funções, desde a proteção contra o ataque de predadores até a atração de organismos polinizadores e dispersores de sementes (VON POSER & MENTZ, 2007).

Do metabolismo secundário vegetal resultam substâncias pertencentes à diferentes classes químicas dentre as quais cita-se: flavonóides, alcalóides, taninos, cumarinas, terpenos, quinonas, dentre outras. Os metabólitos secundários são encontrados geralmente em pequenas concentrações no vegetal, e muitas das vezes são biologicamente ativos, exercendo algum tipo de atividade biológica sobre o organismo humano, sendo assim o interesse farmacêutico em tais substâncias é imenso, sendo várias as espécies vegetais utilizadas popularmente como terapêuticas (dos SANTOS, 2007).

Antes acreditava-se que os metabólitos secundários eram meros subprodutos do metabolismo primário. Há uma diversidade muito grande de metabólitos secundários e as respectivas funções atribuídas a estes, como exemplo cita-se os flavonóides que atuam na proteção dos vegetais contra a radiação solar, os taninos que atuam como dissuadores alimentares e os terpenos e pigmentos como as antocianinas que atuam atraindo organismos polinizadores (VON POSER & MENTZ, 2007).

Segundo dos Santos (2007) todos os metabólitos são sintetizados a partir do metabolismo da glicose através de dois intermediários biossintéticos principais (Figura 3) o ácido chiquímico e o acetato, o primeiro origina os aminoácidos aromáticos os quais são precursores de metabólitos como as cumarinas, as lignanas, as ligninas além de algumas classes de alcalóides, a partir do acetato através de três vias principais são produzidos metabólitos como os terpenóides, os esteróides, algumas classes de alcalóides, dentre

outros, há também metabólitos que resultam da combinação desses dois intermediários, como exemplo cita-se os flavonóides, os taninos condensados e as antraquinonas.



Fonte: Adaptado de dos Santos, 2007.

FIGURA 3 : Origem biossintética dos metabólitos secundários.

Os metabólitos secundários são produzidos em determinados estágios de desenvolvimento e são característicos de cada espécie vegetal. Geralmente são sintetizados em uma determinada parte da planta e armazenado em outra, predominantemente dentro dos vacúolos (RAVEN *et al.*, 2001).

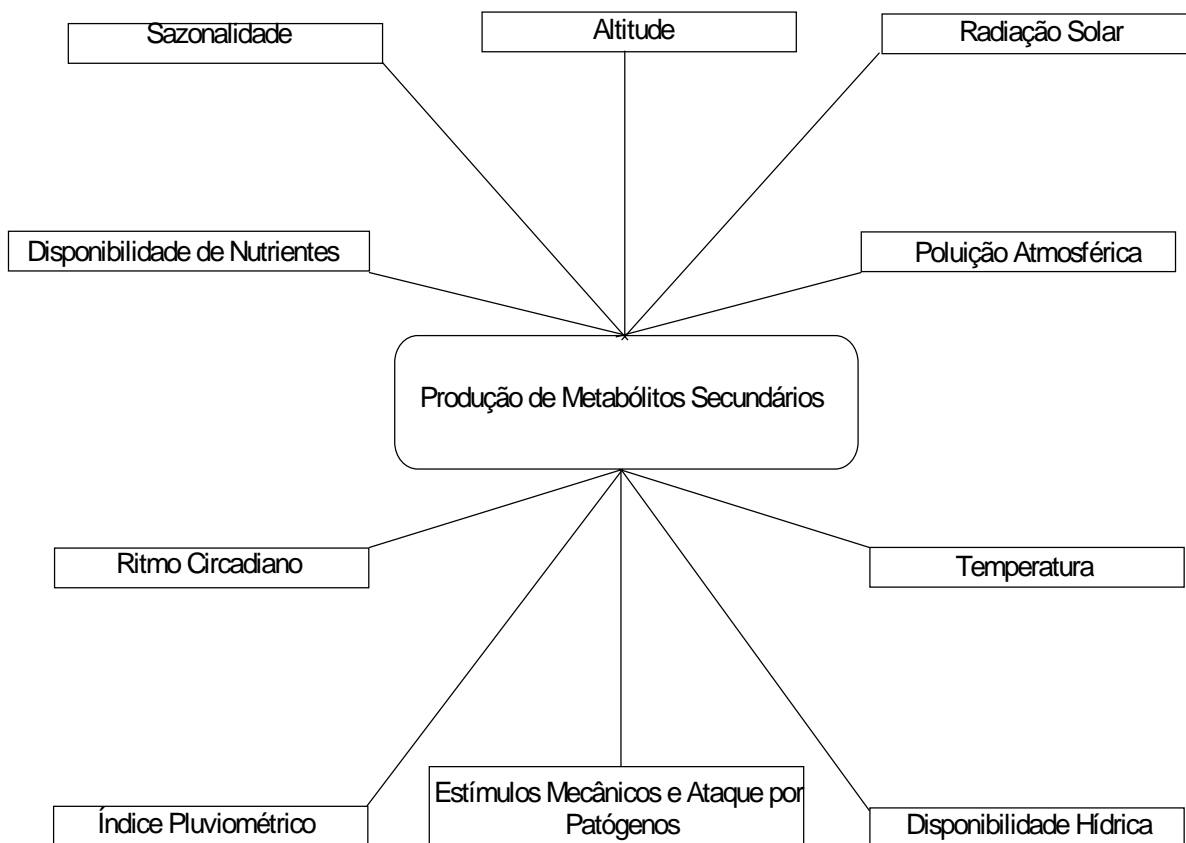
As rotas metabólicas dos metabólitos secundários talvez sejam ativadas somente em algumas fases do desenvolvimento e crescimento do vegetal ou em período de estresse, como a produção de taninos que em algumas espécies só ocorre até a fase de total desenvolvimento da semente, sendo depois extinta, e a síntese de flavonóides que é ativada principalmente quando a planta sofre um estresse devido ao excesso de radiação solar (MANN, 1987).

De acordo com Robbers *et al.* (1996) a produção dos metabólitos secundários é governada por genes sendo por isso diretamente influenciada pela hereditariedade, estágio de desenvolvimento e principalmente fatores ambientais.

Um exemplo marcante da influência de fatores externos sobre a produção de metabólitos secundários trata-se da enzima fenilalanina amonialiase (PAL) a qual é essencial na produção do ácido cinâmico precursor de vários metabólitos fenólicos. A ação desta enzima está sob influência de fatores como hormônios, disponibilidade nutricional, luz, infecção por fungos e lesões, observa-se que quando o vegetal é atacado por fungos a síntese da PAL é aumentada resultando conseqüentemente no aumento da produção de compostos fenólicos (dos SANTOS, 2007).

Dentre os fatores ambientais que interferem na produção de metabólitos secundários destaca-se : sazonalidade, altitude, radiação ultravioleta, ritmo circadiano, disponibilidade hídrica, índice pluviométrico, disponibilidade de nutrientes no solo, poluição atmosférica, estímulos mecânicos e ataques por patógenos (Figura 4). Como exemplo cita-se a variação dos metabólitos secundários em uma mesma espécie cultivada em diferentes locais (sazonalidade), a maior produção de flavonóides devido ao aumento da altitude, o aumento da síntese de flavonóides devido ao aumento da incidência de radiação ultravioleta (radiação solar), a concentração de alguns óleos voláteis que varia nos diferentes períodos do dia (ritmo circadiano), o estresse causado pela falta de água (disponibilidade hídrica) que pode levar ao aumento na síntese de flavonóides, ataques por patógenos freqüentemente levam a um aumento na síntese de metabólitos utilizados como defesa pelo

vegetal. A composição química do solo e a disponibilidade de nutrientes também influem na composição e concentração de metabólitos secundários, observa-se que quando há abundância de nitrogênio no solo há uma diminuição na produção de compostos fenólicos. Um fator não ambiental que influencia na produção e acúmulo dos metabólitos secundários é o estágio de desenvolvimento do vegetal, há metabólitos que são produzidos somente em determinadas fases da vida do vegetal (GOBBO-NETO & LOPES, 2007).



Fonte: Gobbo-Neto & Lopes, 2007.

FIGURA 4 : Fatores ambientais que interferem na produção de metabólitos secundários.

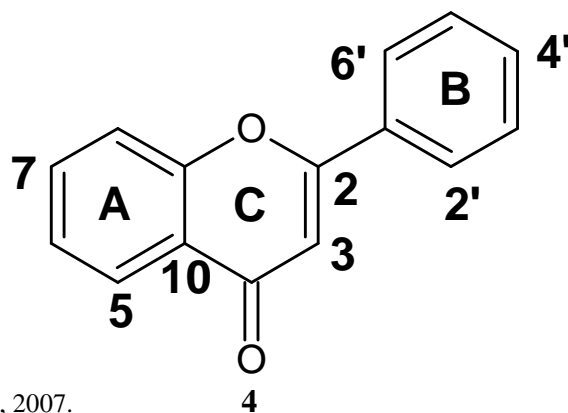
Compostos biologicamente ativos são predominantemente resultantes do metabolismo secundário, o que justifica o grande interesse terapêutico destes, porém à alguns metabólitos primários tem sido atribuído atividade biológica, como as atividades antitumoral, anticoagulante, hipoglicemiante e imunoestimulante atribuídas a alguns polissacarídeos (VON POSER, 2007), bem como as atividades antioxidante, laxante e fungistática apresentadas por determinados tipos de lipídios (MOYNA & HEINZEN, 2007).

2.2.1 – Flavonóides

Os flavonóides representam uma classe de metabólitos secundários vegetais com grande variedade estrutural, sendo conhecidos mais de 4200 flavonóides, em sua maioria heterosídeos. São biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides. No vegetal atuam principalmente na proteção contra a radiação ultravioleta (UV) , como antioxidantes, na atração de polinizadores, na proteção contra predadores e na alelopatia (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007).

Os flavonóides são os compostos fenólicos de maior ocorrência nos vegetais, muitos apresentam-se como pigmentos hidrossolúveis. Devido à coloração que conferem à órgãos como as flores atuam atraindo agentes polinizadores. Ocorrem na maioria das espécies vegetais lhes sendo de extrema importância pois bloqueiam a radiação UV extrema a qual destrói estruturas essenciais à sua vida como os ácidos nucleicos e as proteínas (RAVEN *et al.*, 2001).

A figura 5 mostra o núcleo fundamental dos flavonóides e sua numeração.



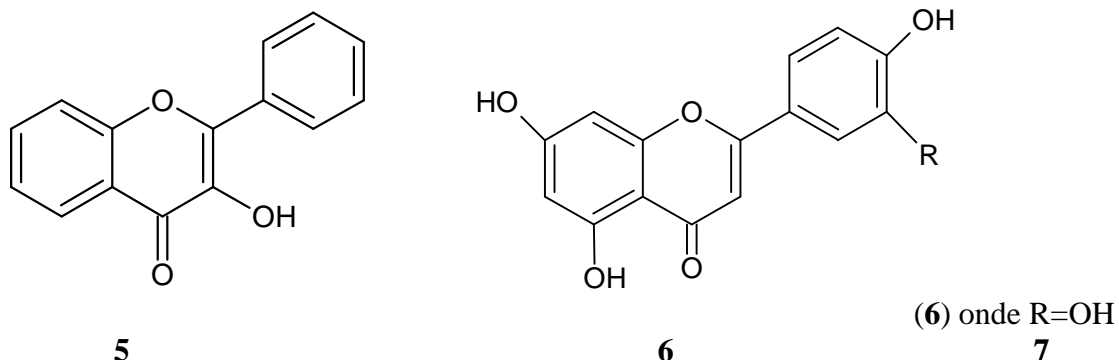
Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 5: Núcleo fundamental dos flavonóides.

Os flavonóides ocorrem sob diversas formas estruturais (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007) as quais são apresentadas abaixo.

- **Flavonas, flavonóis e seus O-heterosídeos** – são os tipos de flavonóides mais abundantes no reino vegetal. As flavonas apresentam como estrutura básica a 2-fenilcromona (4) e são encontradas em quase todo o reino vegetal predominantemente sob a forma heterosídica (ligado à um açúcar), as flavonas mais abundantes são a apigenina (6) e

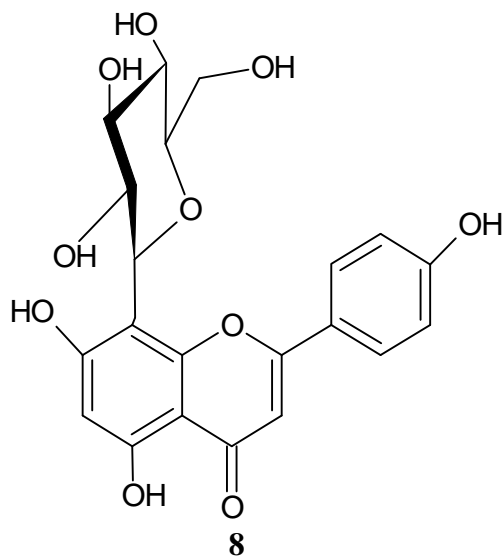
luteolina (7). Os flavonóis apresentam como estrutura básica a 3-hidróxi-2-fenilcromona (5), sendo canferol, quercetina, miricetina seus representantes mais comumente encontrados nos vegetais. Os flavonóides *O*-heterosídeos são aqueles nos quais as ligações osídicas (ligação entre o açúcar e a aglicona) se dá entre o carbono do açúcar e o oxigênio das hidroxilas da aglicona.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 6: Estrutura da 3-hidróxi-2-fenilcromona, apigenina e luteolina.

- **Flavonóides C-heterosídeos** – apresentam ligação osídica entre o primeiro carbono do açúcar e os carbonos 6 e/ou 8 do anel A da aglicona, ao contrário dos *O*-heterosídeos, quando hidrolisados em meio ácido a ligação osídica não é rompida. A figura 7 mostra a estrutura da vitexina (8) uma flavona *C*-heterosídica.

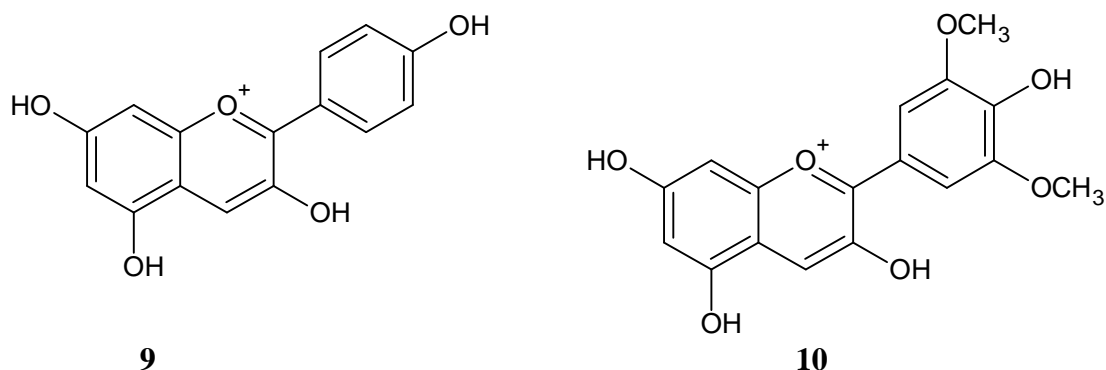


Fonte: Bianco & Santos, 2005

FIGURA 7: Estrutura da vitexina, um flavonóide *C*-heterosídeo.

- **Antocianos** – representam um importante grupo de pigmentos ocorrentes em diversas espécies vegetais conferindo cor características à suas flores e frutos, atuando na atração de agentes polinizadores e dispersores de sementes. Quando encontrados sob a forma de geninas (sem estar ligado à açúcares) são denominados antocianidinas, porém são mais estáveis sob a forma de heterosídeos, donde são denominados antocianosídeos. Muitos antocianos são empregados como aditivos alimentares.

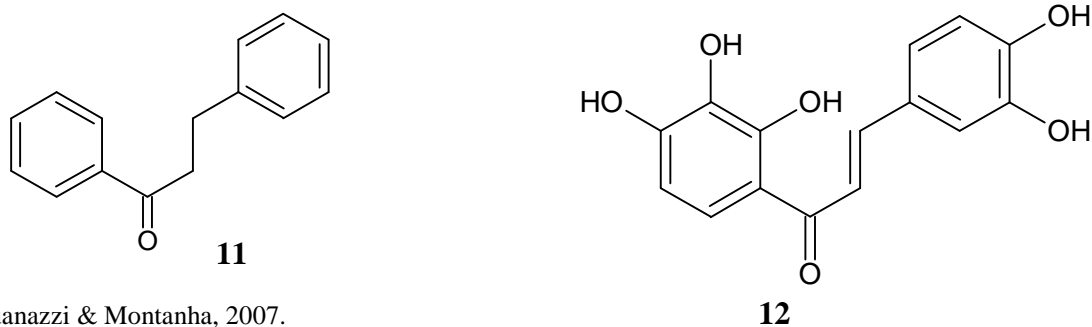
O cátion flavílico (9) é o núcleo fundamental dos antocianos, a malvidina (10), é um antociano de grande ocorrência na natureza.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 8: Núcleo fundamental dos antocianos e estrutura da malvidina.

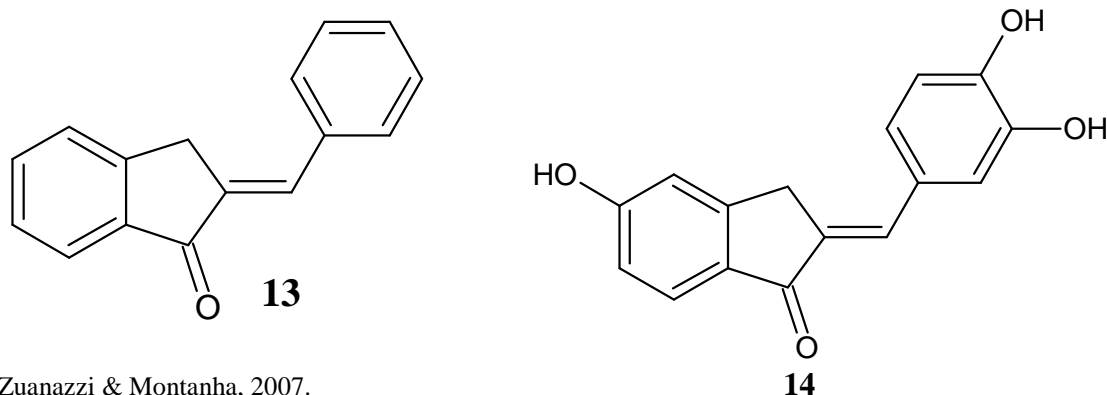
- **Chalconas** – apresentam o 1,3-diarilpropano (11) como núcleo fundamental, apresentam como característica a coloração amarela que em pH básico torna-se vermelha. Assim como os antocianos as chalconas atuam na atração de insetos e/ou pássaros que promovem a polinização. São encontradas predominantemente nas flores embora possam ocorrer em outras partes do vegetal. É comum sob certas condições as chalconas se isomerizarem em flavanonas. A ocanina (12) é um exemplo de chalcona.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 9: Núcleo fundamental das chalconas e estrutura da ocanina.

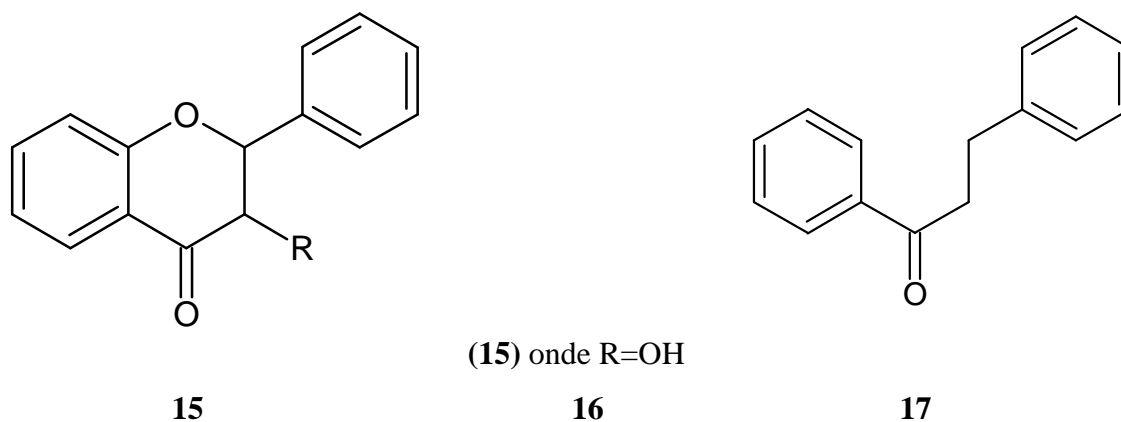
- **Auronas** – apresentam o 2-benzilidenocumarona (13) como núcleo fundamental, recebendo essa denominação devido à coloração dourada característica. Apresentam isomeria geométrica, ocorrendo predominantemente sob a configuração Z donde são chamadas de Z-auronas. A sulfuretina (14) exemplifica uma aurona.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 10: Núcleo fundamental das auronas e estrutura da sulfuretina.

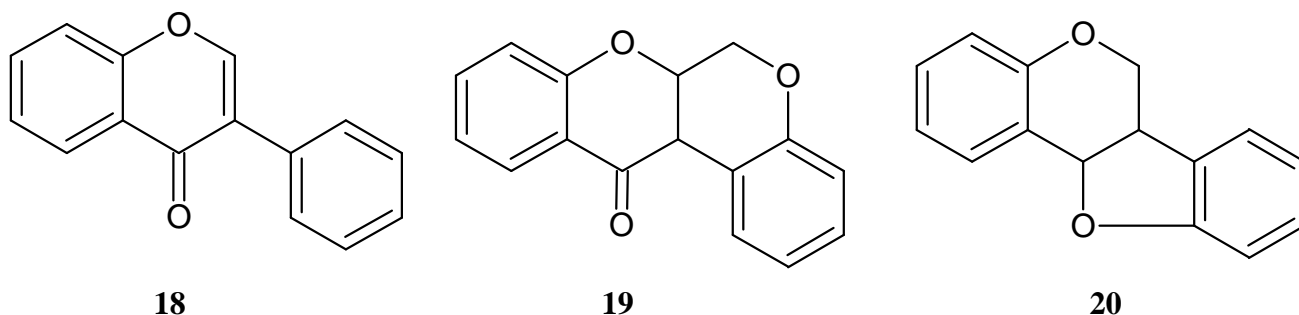
- **Di-hidroflavonóides** – são representados pelas flavanonas (15), os flavanonóis (16) e as di-hidrochalconas (17). As flavanonas apresentam núcleo fundamental semelhante ao das flavonas (4) porém sem a ligação dupla entre os carbonos 2 e 3. Os flavanonóis apresentam como núcleo fundamental a 3-hidróxilflavanona. As di-hidrochalconas apresentam um núcleo fundamental semelhante ao das chalconas (11), porém sem a ligação dupla entre os carbonos α e β , nos vegetais desempenham a função de protetor contra doenças causadas por microorganismos, além de dissuadores alimentares.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 11: Núcleo fundamental das flavanonas, flavanonóis e di-hidrochalconas.

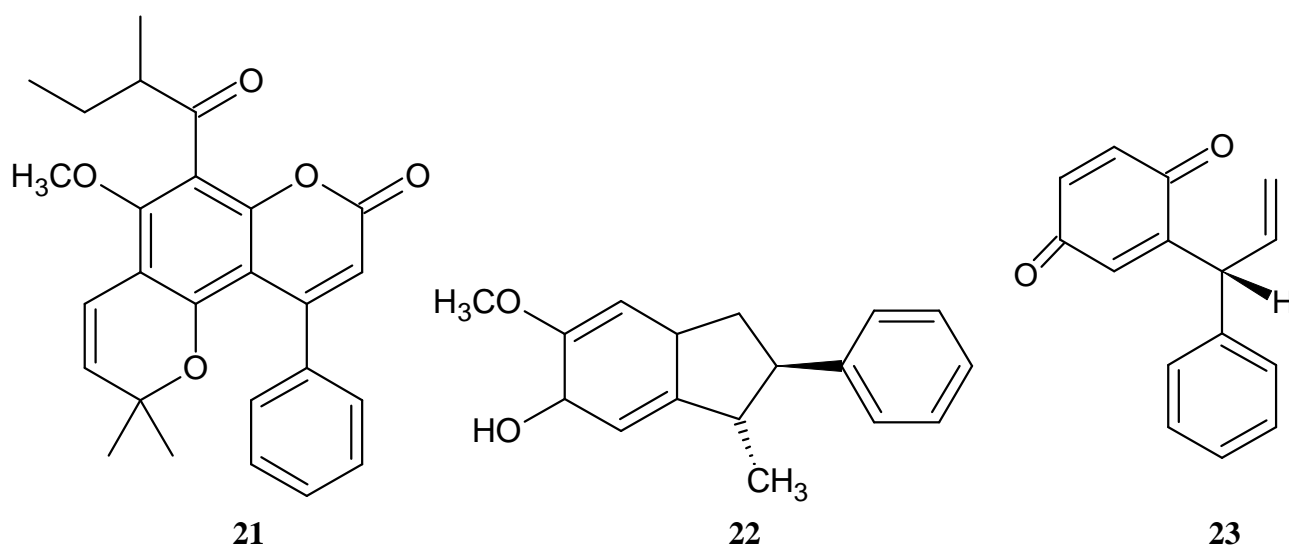
- **Isoflavonóides** – apresentam cadeias do tipo difenil-1,2-propano. Ocorrem predominantemente em espécies vegetais da família Fabaceae, nos vegetais atuam principalmente como fitoalexinas (substâncias que são produzidas pelos vegetais como resposta à infecção causada por patógenos). Apresentam uma variedade estrutural muito grande, a figura 12 mostra a estrutura básica das isoflavonas (18), dos rotenóides (19) e dos pterocarpanos (20), exemplos de isoflavonóides comuns.



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 12 : Estrutura básica das isoflavonas, dos rotenóides e dos pterocarpanos.

- **Neoflavonóides** – apresentam 15 átomos de carbono em sua estrutura, ocorrem sob pequena variedade estrutural, destacando-se as 4-arilcumarinas (21), os 3-arilbenzofuranos (22) e as dalbergionas (23).

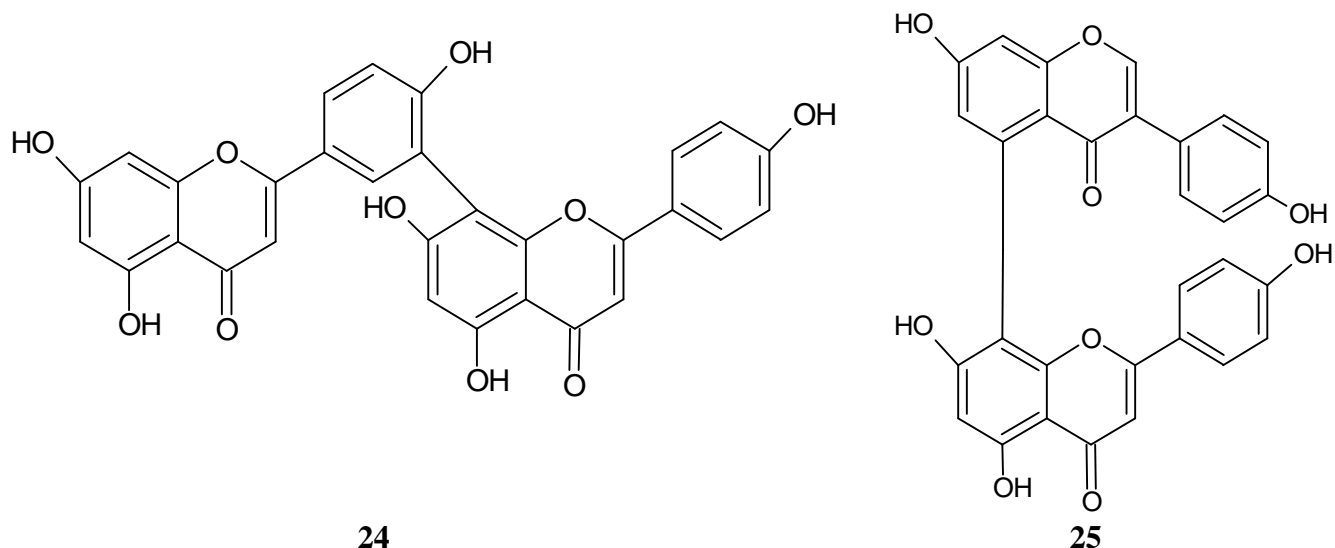


Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

FIGURA 13 : Estrutura básica das 4-arilcumarinas, 3-arilbenzofuranos e dalbergionas.

- **Biflavonóides** – apresentam-se sob a forma de dímeros geralmente de flavonas e flavanonas, ocorrendo predominantemente como geninas. Ocorrem com abundância nos vegetais, acredita-se que atuando como antifúngicos ou dissuadores alimentares.

A figura 14 apresenta a estrutura básica das amentoflavonas (24) e agatisflavonas (25), exemplos de biflavonóides .



Fonte: Zuanazzi & Montanha, 2007.

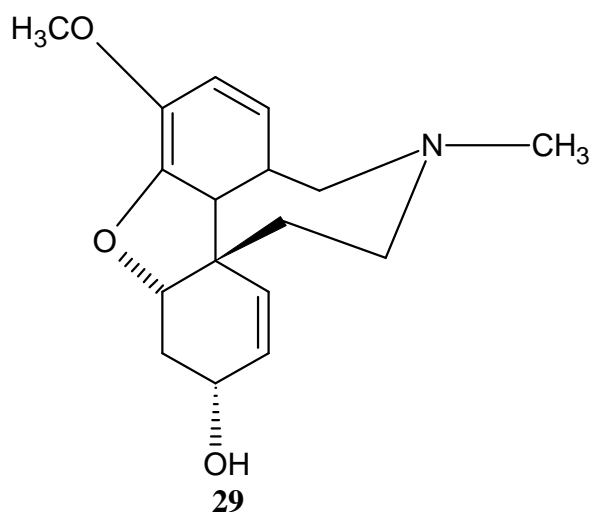
FIGURA 14: Estrutura básica das amentoflavonas e agatisflavonas.

As características físico-químicas dos flavonóides são dependente do seu tipo, as agliconas ocorrem sob a forma de cristais amarelos sendo preferencialmente solúveis em solventes orgânicos apolares, os heterosídeos são na maioria das vezes hidrossolúveis (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007).

Várias atividades biológicas são atribuídas aos flavonóides, sendo assim diversas espécies vegetais ricas em tais metabólitos secundários têm sido empregadas como recurso terapêutico, segundo Silva *et al.* (2007a) as principais fontes de flavonóides são: frutas, sucos, vegetais, vinho tinto, chocolate e os chás verde e preto.

Dentre as atividades biológicas atribuídas aos flavonóides cita-se: atividade antioxidante, alguns flavonóides atuam na proteção das células contra o estresse oxidativo, provocado por exemplo pela peroxidação de lipídios (de SOUZA *et al.*, 2004), a atividade antioxidante atribuída aos flavonóides provém principalmente da sua capacidade de doar elétrons aos radicais livres, causando a redução destes (SILVA *et al.*, 2005).

galantamina (29) respectivamente, sendo que o primeiro é empregado no tratamento do câncer enquanto o segundo atua como inibidor da enzima acetilcolinesterase.



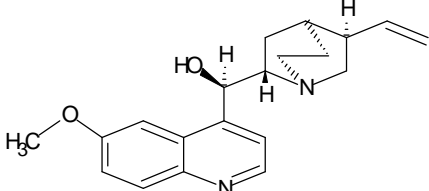
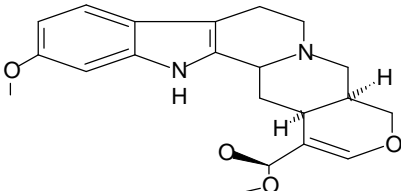
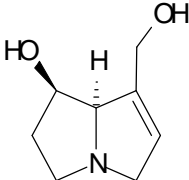
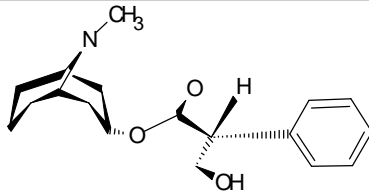
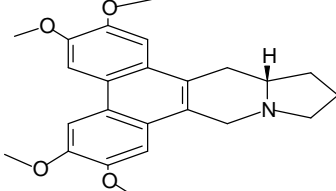
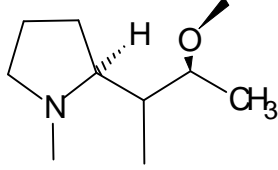
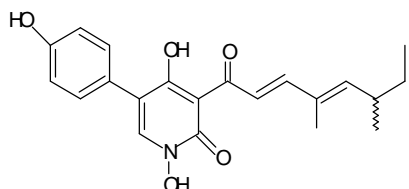
Fonte: Barreiro & Fraga, 2008.

FIGURA 16: Estrutura da galantamina.

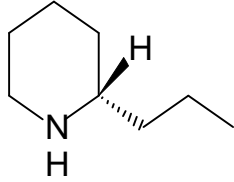
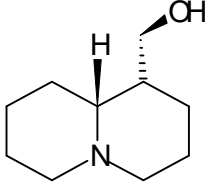
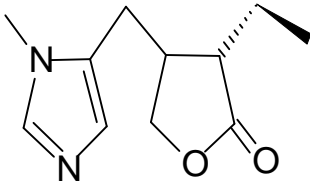
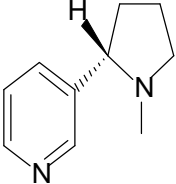
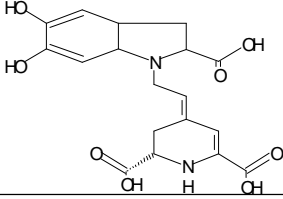
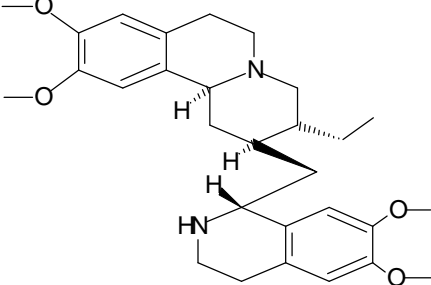
Os alcalóides são compostos nitrogenados farmacologicamente ativos, empregados desde a antigüidade para as mais diversas finalidades, inclusive como veneno em execuções, como a do filósofo Sócrates que foi executado pela ingestão de uma bebida contendo o alcalóide coniina. Quando o átomo de nitrogênio do alcalóide encontra-se em um anel heterocíclico estes são chamados de alcalóides verdadeiros, por sua vez quando o átomo de nitrogênio encontra-se fora do anel heterocíclico são chamados protoalcalóides, já os alcalóides que não são derivados de aminoácidos são chamados de pseudoalcalóides (HENRIQUES *et al.*, 2007).

Os alcalóides podem ser encontrados em qualquer parte do vegetal, em geral são produzidos em um determinado órgão e armazenado em outro, sendo armazenados predominantemente dentro de vacúolos. Nos vegetais atuam principalmente na proteção contra predadores e patógenos. Há vários precursores de alcalóides porém a maior parte destes são derivados de aminoácidos (HENRIQUES *et al.*, 2007).

O quadro 1 apresenta as classes de alcalóides derivados de aminoácidos.

Classe	Precursor	Exemplo/Nome	
Quindínico	Triptofano		Quina
Indólico	Triptofano	Reserpinina	
Pirrolizidínico	Oritina		Retroneurina
Tropânico	Oritina	Atropina	
Fenantroindolizidínico	Oritina		Tildofina
Pirrolidínico	Oritina	Hgrina	
Piridínico	Fenilalanina		Telenorina

Continuação do quadro 1.

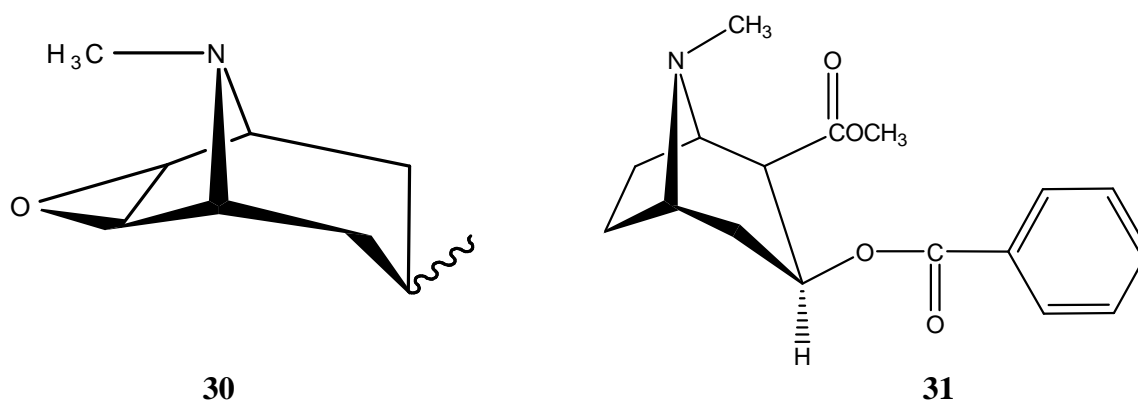
Piperidínico	Lisina	Coniina	
Quindizidínico	Lisina	Lupinina	
Imidazólico	Histidina	Pilocarpina	
Pridínico	Ácido Aspártico	Notina	
Didroindólico	Tirosina	Betanidina	
Isoquindínico	Tirosina	Emetina	

Fonte: Henriques *et al.* 2007

QUADRO 1: Classes de alcalóides derivados de aminoácidos.

Dentre as diversas classes de alcalóides destacam-se os alcalóides tropanicos, indólicos, pirrolizidínicos e esteroidais, os quais são apresentados a seguir.

- **Alcalóides tropanicos** – apresentam o tropano 8-metil-8-azabicyclo [3,2,1] octano como estrutura básica, ocorrem principalmente nas famílias Solanaceae e Erythroxylaceae. Os alcalóides tropanicos exercem ação principalmente sobre o sistema nervoso central (SNC), sendo em muitas das vezes tóxicos. Devido às propriedades biológicas que exercem sobre o organismo, vários alcalóides tropanicos são empregados na terapêutica principalmente como anestésicos locais e antídotos em casos de envenenamentos por substâncias que atuam na inibição da acetilcolinesterase. Dentre os principais alcalóides tropanicos cita-se a atropina (Quadro 1), a escopolamina (30) e a cocaína (31) que é um potente estimulante do SNC sendo por isso utilizada como alucinógeno (BACCHI, 2007).

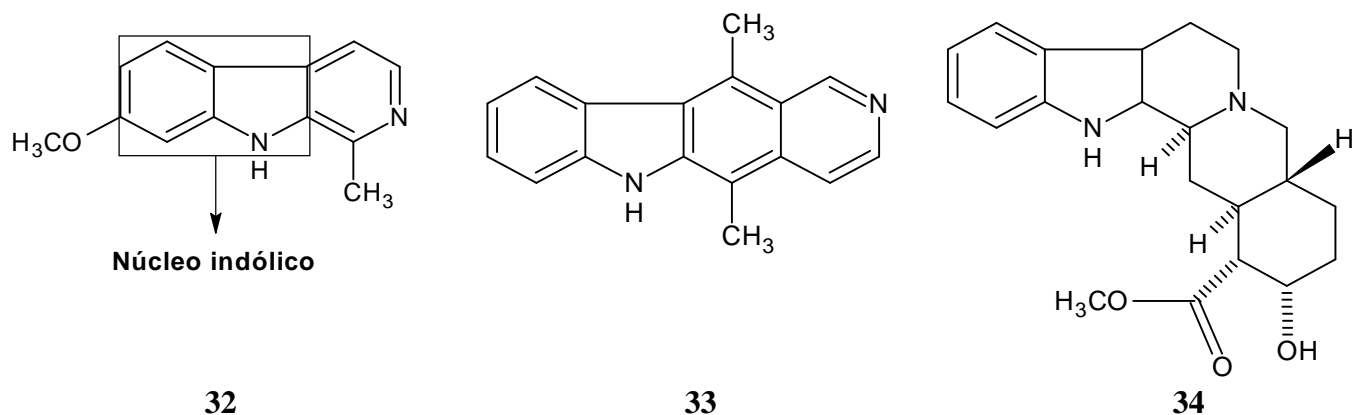


Fonte: Bacchi, 2007.

FIGURA 17: Estrutura da escopolamina e da cocaína.

- **Alcalóides indólicos** – apresentam em comum o núcleo indólico (Figura 18) são classificados em dois tipos, alcalóides indólicos monoterpênicos e os demais alcalóides. São encontrados predominantemente nas famílias Apocynaceae, Rubiaceae e Loganaceae. Plantas nas quais são encontrados alcalóides indólicos são na maioria das vezes consideradas tóxicas devido às atividades biológicas apresentadas por estes. Dentre os alcalóides indólicos biologicamente ativos destaca-se a harmina (32), empregada como alucinógeno, a iombina (34) que age sobre o sistema cardiovascular, sendo utilizado em casos de impotência sexual e a elipticina (33) que inibe a síntese de DNA, RNA e consequentemente das proteínas (SCHRIPEMA, DAGNINO & GOSMANN, 2007).

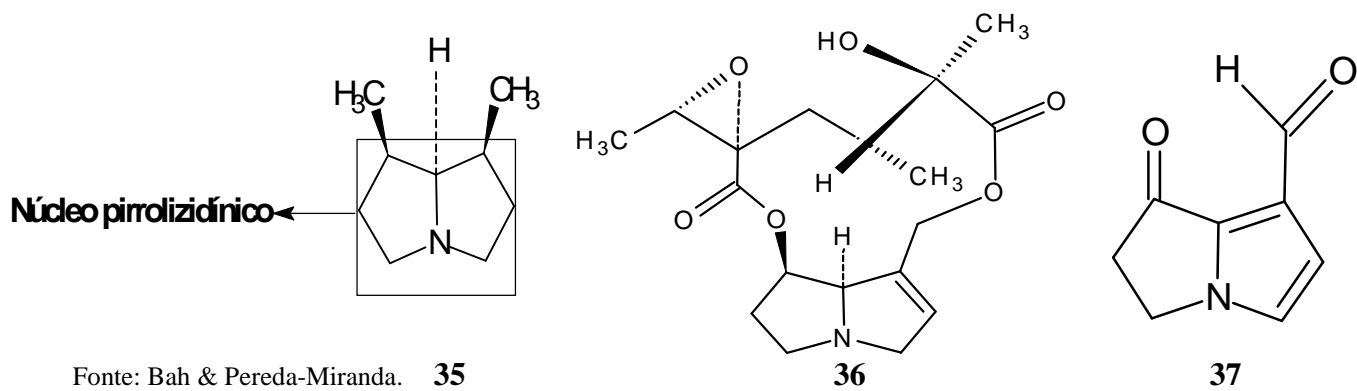
Dentre os alcalóides indólicos empregados como fármacos destaca-se a vincristina e a vimblastina empregadas em casos de leucemia, sendo muito bem sucedidas comercialmente (BARREIRO & FRAGA, 2008).



Fonte: Schripsema, Dagnino & Gosmann, 2007.

FIGURA 18: Estrutura dos alcalóides indólicos harmina, elipticina e iombina.

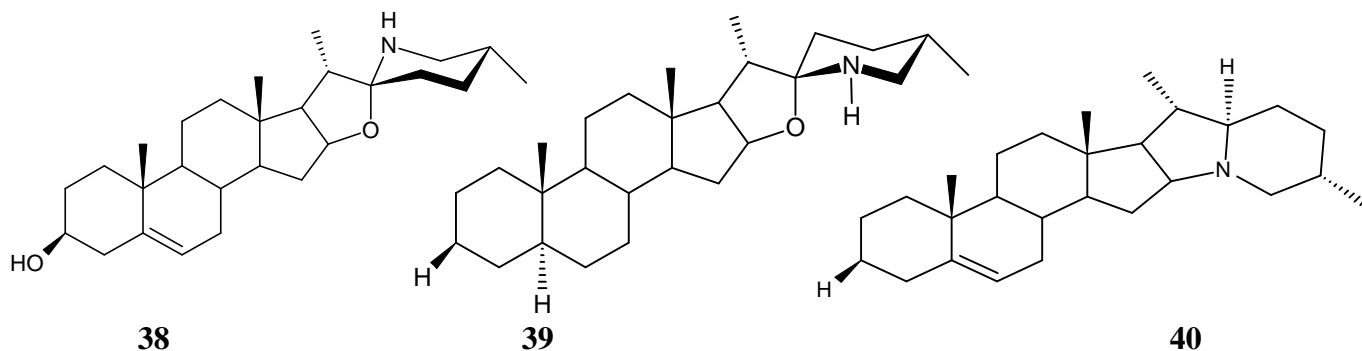
- **Alcalóides pirrolizidínicos** – apresentam o núcleo pirrolizidínico (Figura 19) como estrutura básica, vulgarmente chamado de necina. Ocorrem predominantemente em vegetais, podendo ser encontrados em diferentes órgãos, no entanto são encontrados em algumas espécies animais também. Devido à alta toxicidade apresentada pelos alcalóides pirrolizidínicos estes não encontram grande aplicação na terapêutica, acredita-se que tal toxicidade seja causada não pelos alcalóides em si, mas sim pelos produtos de seu metabolismo no organismo, afetando principalmente o fígado (BAH & PEREDA-MIRANDA, 2007). Os compostos retronecanol (35), lasiocarpina (36) e danaidona (37) são exemplos de alcalóides pirrolizidínicos.



Fonte: Bah & Pereda-Miranda. **35**

FIGURA 19: Estrutura do retronecanol, lasiocarpina e danaidona.

- **Alcalóides esteroidais** – apresentam uma grande variedade estrutural ocorrendo sob a forma livre (genina) e heterosídica donde são denominados glicoalcalóides esteroidais. São encontrados tanto em vegetais quanto em animais, sendo na maioria das vezes muito tóxicos. Possuem em comum a estrutura característica dos esteróides (núcleo tetracíclico). Nos vegetais a produção e acúmulo de alcalóides esteroidais tem sido relacionada à proteção destes. Dentre as atividades biológicas atribuídas aos alcalóides esteroidais cita-se : antibacteriana, antifúngica, inseticida e praguicida. Os compostos solasodina (38), tomatidina (39) e solanidina (40) são exemplos de alcalóides esteroidais (CHIESA & MOYNA, 2007).

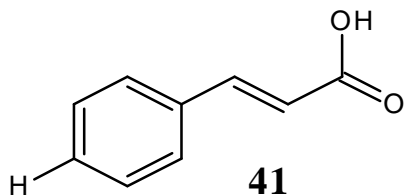


Fonte: Chiesa & Moyna, 2007.

FIGURA 20: Estrutura dos alcalóides esteroidais solasodina, tomatidina e solanidina.

2.2.3 - Óleos Voláteis

Dentre as várias classes de metabólitos secundários os óleos voláteis destacam-se devido à sua grande ocorrência e complexidade. Estes são resultantes de misturas complexas de substâncias lipofílicas, em sua maioria derivados fenilpropanóides ou terpenóides, sendo que estes últimos preponderam (SIMÕES & SPITZER, 2007).



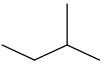
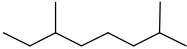
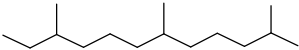
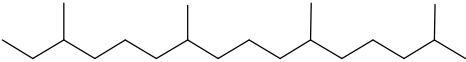
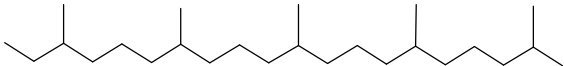
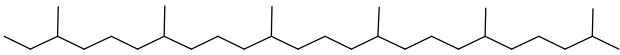
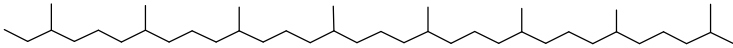
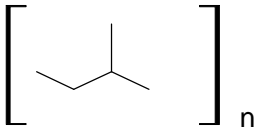
Fonte: dos Santos, 2007.

FIGURA 21: Estrutura do ácido cinâmico, um fenilpropanóide.

Os terpenóides são a maior classe de metabólitos secundários, abrangendo mais de 22.000 compostos diferentes, são resultantes da condensação de unidades de isopreno (cinco carbonos) que por sua vez é resultante do metabolismo do acetato via ácido mevalônico (ver figura 3), sendo classificados de acordo com o número de unidades isoprênicas pelo qual são formados (Quadro 2) , como exemplo cita-se os monoterpênicos e os sesquiterpênicos que são os compostos terpênicos mais abundantes nos óleos voláteis (RAVEN *et al.*, 2001).

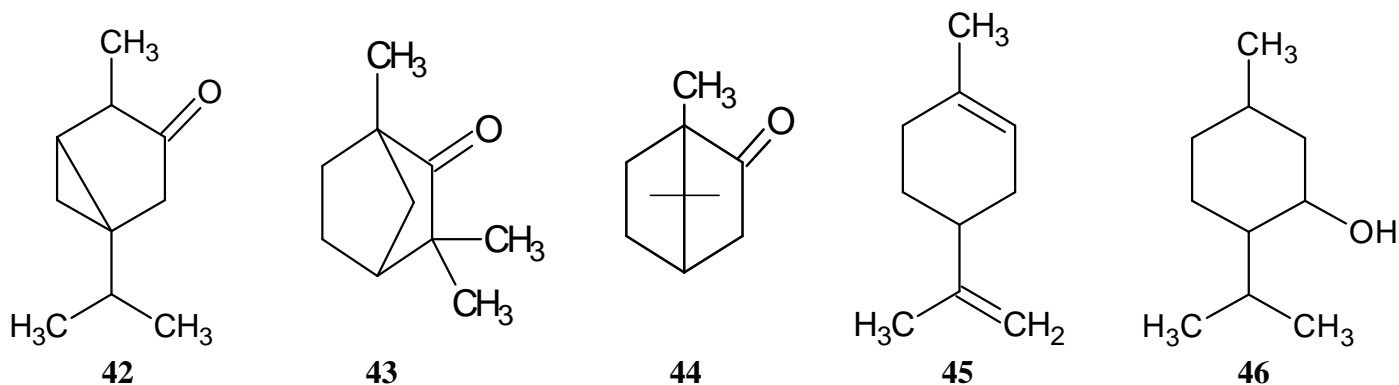
Dentre as características dos óleos voláteis cita-se sua instabilidade frente à luz e ao calor, tais fatores interferem na composição e concentração de seus constituintes, como observado por Corrêa *et al.* (2004) que avaliou o rendimento do óleo volátil das folhas de *Vernonia polyanthes* (assa-peixe) quando submetidas à diferentes métodos de secagem, observando que a secagem mista (sol e sombra) à temperatura ambiente e a secagem realizada em estufa à 35°C causaram uma perda significativa na concentração destes, provocando uma queda em seu rendimento.

Todos os órgãos do vegetal podem acumular óleos voláteis, mas a composição e concentração destes pode variar segundo sua localização. Dentre as funções dos óleos voláteis nos vegetais cita-se: inibição da germinação de sementes, proteção contra predadores e atração de polinizadores. Óleos voláteis são frequentemente utilizados como flavorizantes, na fabricação de perfumes e na aromaterapia. Na terapêutica são empregados principalmente como anestésico local, carminativo, antiinflamatório e anti-séptico. O uso terapêutico dos óleos voláteis deve ser parcimonioso visto que grande parte destes apresenta toxicidade considerável sobre o organismo humano, causando principalmente reações cutâneas. Como exemplo de óleos tóxicos cita-se os óleos ricos em tujona (42), fenchona (43) e cânfora (44) os quais são neurotóxicos. Como exemplo de plantas ricas em óleos voláteis cita-se o limão, rico em limoneno (45) , o hortelã-pimenta rico em mentol (46) e o funcho rico em fenchona (SIMÕES & SPITZER, 2007).

N ^o de Unidades de Isopreno	Esqueleto Carbônico	Classe
1		Isopreno
2		Monoterpeno
3		Sesquiterpeno
4		Diterpeno
5		Sesterpeno
6		Triterpeno
8		Tetraterpeno
n		Poliisopreno

Fonte: Simões & Spitzer, 2007.

QUADRO 2 : Classes de terpenos.

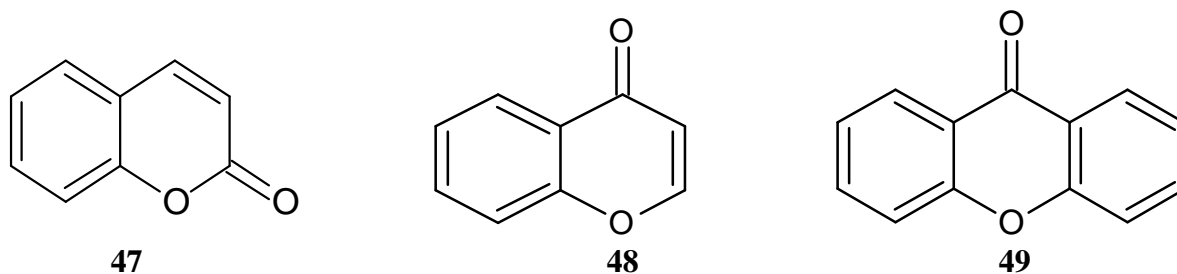


Fonte: Simões & Spitzer, 2007.

FIGURA 22 : Exemplos de terpenóides: tujona, fenchona, cânfora, limoneno e mentol.

2.2.4 - Cumarinas, Cromonas e Xantonas

Cumarinas, cromonas e xantonas são classes de metabólitos secundários de grande importância terapêutica, as primeiras apresentam como estrutura básica a 1,2- benzopirona (47), as segundas são isômeros das primeiras, apresentando a 5H-1-benzopiran-5-onas (48) como estrutura básica, e as últimas apresentam como estrutura básica a dibenzo- γ -pirona (49) (KUSTER & ROCHA, 2007).

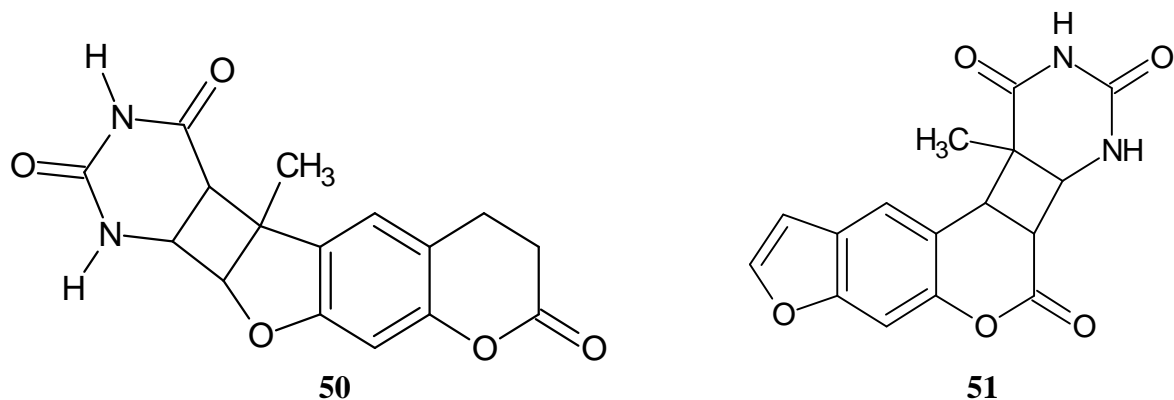


Fonte: Kuster & Rocha, 2007.

FIGURA 23 : Estruturas básicas das cumarinas, cromonas e xantonas.

Segundo Kuster & Rocha (2007) as cumarinas são de grande ocorrência em vegetais, podendo ser encontradas também em fungos e bactérias. São derivadas do ácido cinâmico e conseqüentemente da fenilalanina. São de ocorrência principal em angiospermas, podendo ser encontradas em qualquer parte da planta. São eficientes potenciais farmacológicos e ao mesmo tempo pouco tóxicas para os mamíferos. Dentre os principais tipos de cumarinas encontra-se as furanocumarinas e as piranocumarinas as quais apresentam toxicidade considerável, as furanocumarinas são fototóxicas, quando expostas à

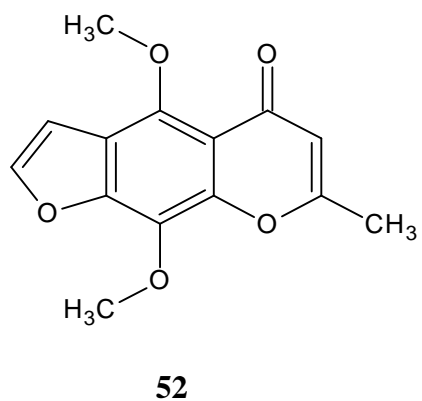
radiação tornam-se reativas podendo ligar-se à bases pirimidínicas do DNA provocando mutações. A figura 24 mostra a estrutura de uma furanocumarina ligada à timina.



Fonte: Kuster & Rocha, 2007.

FIGURA 24 : Furanocumarina ligada à base timina.

As cromonas são isômeros das cumarinas, apresentando pequena variedade estrutural, a quelina (52) é uma furanocromona que apresenta atividades vasodilatadora e broncodilatadora. As xantonas recebem essa denominação devido à coloração amarela advinda da absorção de luz visível no comprimento de onda de 400 nm, à essa classe de metabólitos são atribuídas diversas atividades biológicas, desde antimicrobiana à antileucêmica, sendo também utilizadas no tratamento da depressão, acredita-se que atuando na inibição da enzima monoamino-oxidase (MAO) (KUSTER & ROCHA, 2007).

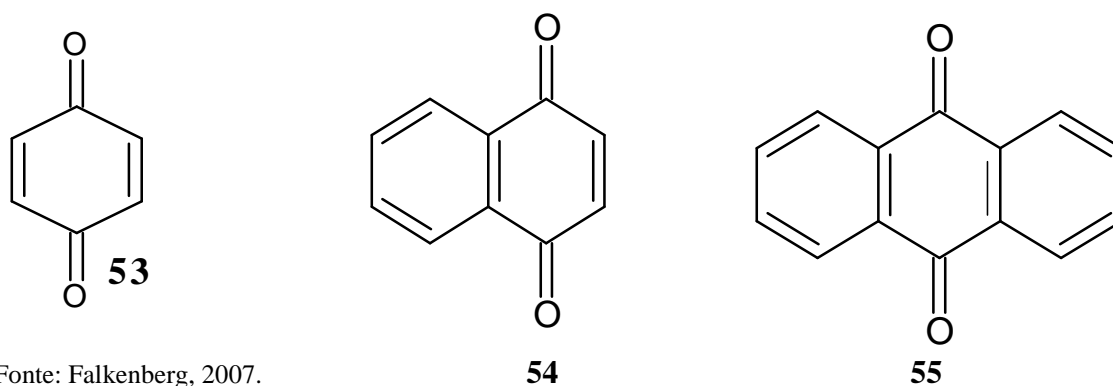


Fonte: Kuster & Rocha, 2007.

FIGURA 25 : Estrutura da furanocromona quelina.

2.2.5 - Quinonas

As quinonas são metabólitos secundários considerados como produtos da oxidação de fenóis. Quando compostas por um único anel benzênico são denominadas benzoquinonas (53), quando apresentam dois anéis benzênicos recebem a denominação de naftoquinonas (54), enquanto quinonas que apresentam três anéis benzênicos em sua estrutura são denominadas antraquinonas (55), sendo muitas vezes chamadas também de derivados antracênicos (FALKENBERG, 2007).



Fonte: Falkenberg, 2007.

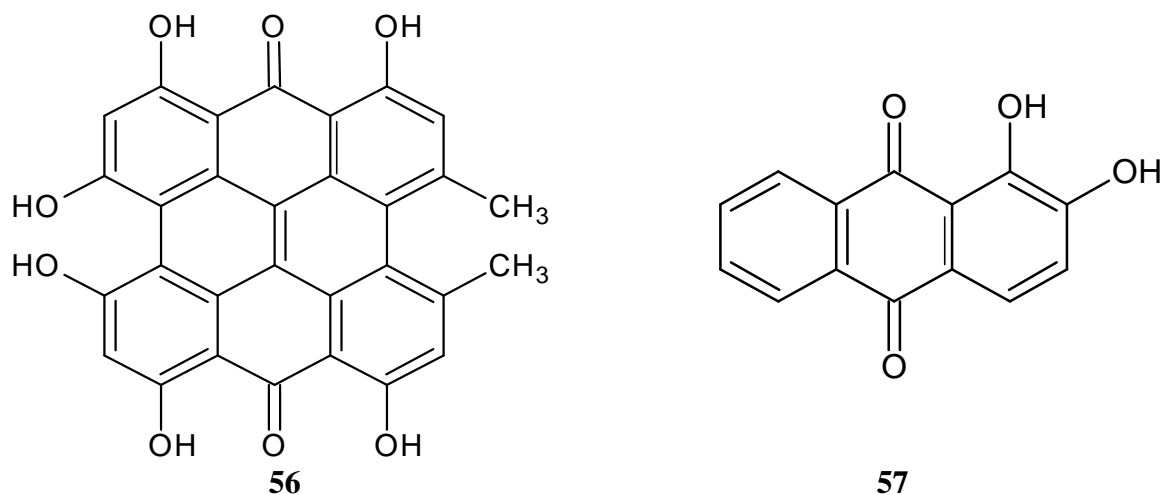
FIGURA 26: Estrutura básica das benzoquinonas, naftoquinonas e antraquinonas.

As quinonas são de ocorrência principal em vegetais podendo no entanto serem encontradas em fungos, bactérias e líquens. São na maioria das vezes encontradas sob a forma de heterosídeos, as antraquinonas apresentam-se predominantemente sob a forma de *O*-glicosídeos. As quinonas hidroxiladas, quando em meio alcalino apresentam coloração púrpura à violeta sendo tal característica utilizada em sua identificação (FALKENBERG, 2007).

Há várias quinonas biologicamente ativas, estas são empregadas principalmente como laxantes, porém outras atividades lhes têm sido atribuídas, como a atividade antidepressiva apresentada pela hipericina (56) substância isolada de *Hypericum perforatum* sendo bastante utilizada na Europa e nos Estados Unidos no tratamento de distúrbios psíquicos (PEDROSA, YUNES & CECHINEL-FILHO, 2001).

Nos vegetais acredita-se que as quinonas atuam na proteção contra predadores e patógenos, além de agir como substâncias alelopáticas protegendo o vegetal contra competidores intra e/ou interespecíficos. Devido à coloração que apresentam muitas

quinonas são empregadas na indústria como corantes, dentre elas a alizarina (57). O uso abusivo e prolongado de quinonas pode causar a perda de eletrólitos além de alterações morfológicas do colo e do reto havendo casos que necessitam de intervenção cirúrgica, (FALKENBERG, 2007).



Fonte: Falkenberg, 2007.

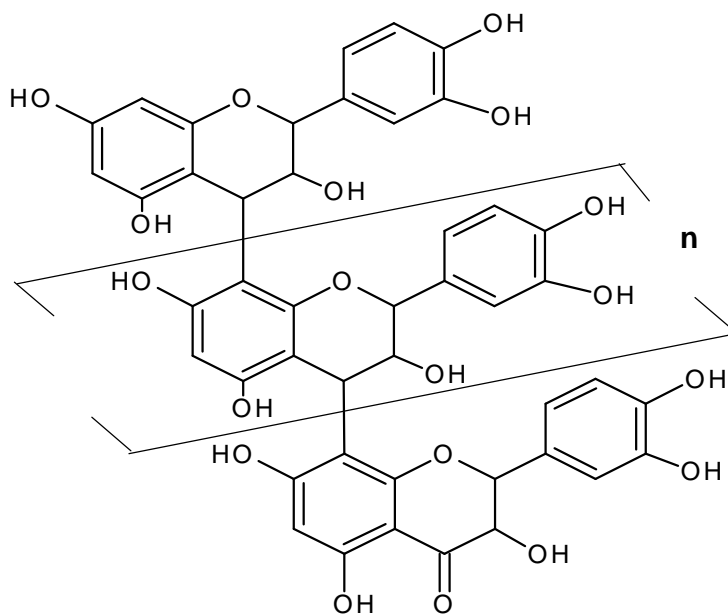
FIGURA 27 : Estrutura da hipericina, uma naftodiantrona e da alizarina, uma naftoquinona.

2.2.6 - Taninos

Compostos fenólicos conhecidos por taninos representam uma importante e extensa classe de metabólitos secundários, que apresenta como características principais solubilidade em água e precipitação na presença de proteínas. No vegetal atuam principalmente na proteção contra predadores, funcionando como dissuadores alimentares, sendo responsável pela adstringência de muitos frutos (MONTEIRO *et al.*, 2005).

Os taninos são tidos como fatores antinutricionais pois reduzem a digestão de fibras e proteínas através da inibição de enzimas digestivas (GUIMARÃES-BELLEN *et al.*, 2006). São classificados em dois tipos principais: hidrolisáveis e condensados, os primeiros são ésteres dos ácidos gálico e elágico, enquanto os segundos resultam da condensação de unidades de flavan-3-ol e flavan-3,4-diol sendo denominados por proantocianidinas. (SANTOS & de MELLO, 2007).

A figura 28 apresenta a estrutura básica dos taninos condensados.



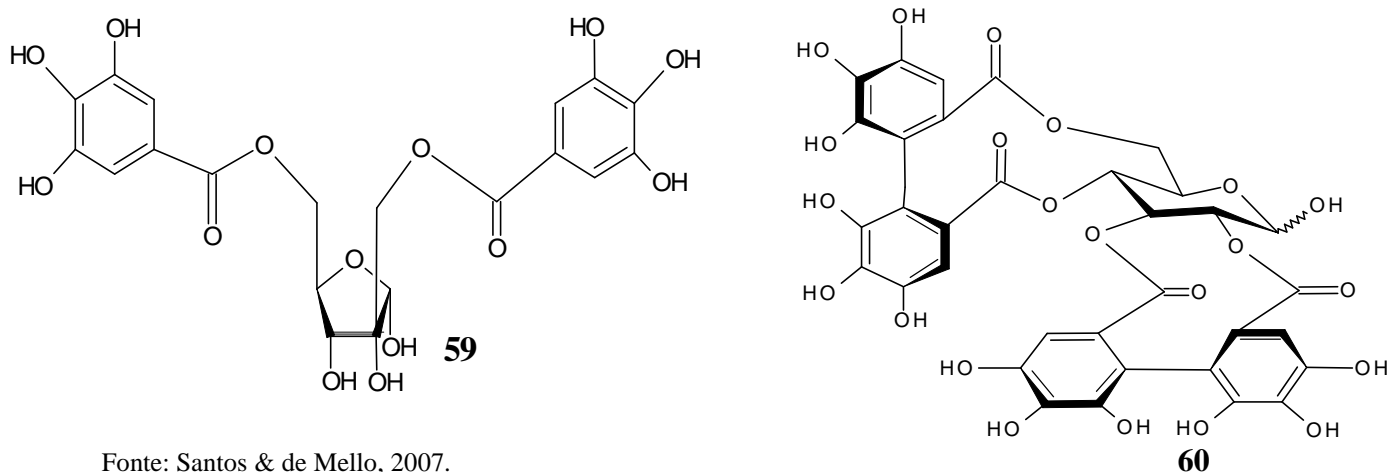
58

Fonte: Santos & de Mello, 2007.

FIGURA 28 : Estrutura básica dos taninos condensados.

Os taninos podem ser produzidos e armazenados nos cloroplastos, amiloplastos, parede celular e espaços intercelulares. Os taninos hidrolisáveis formados pelo ácido gálico são denominados galotaninos, enquanto os formados pelo ácido elágico são denominados elagitaninos (MONTEIRO *et al.*, 2005).

O hamamelitanino (59) é um galotanino e constituinte principal das cascas de *Hamamelis virginiana*, e a pedunculagina (60) um elagitanino.



Fonte: Santos & de Mello, 2007.

FIGURA 29 : Estruturas do hamamelitanino e da pedunculagina.

Devido à complexação com proteínas os taninos apresentam atividade bactericida e fungicida. Apresentando também atividades antioxidante e cicatrizante, sendo esta última resultado da camada protetora que é formada graças à complexação do tanino com as proteínas da derme (MONTEIRO *et al.*, 2005).

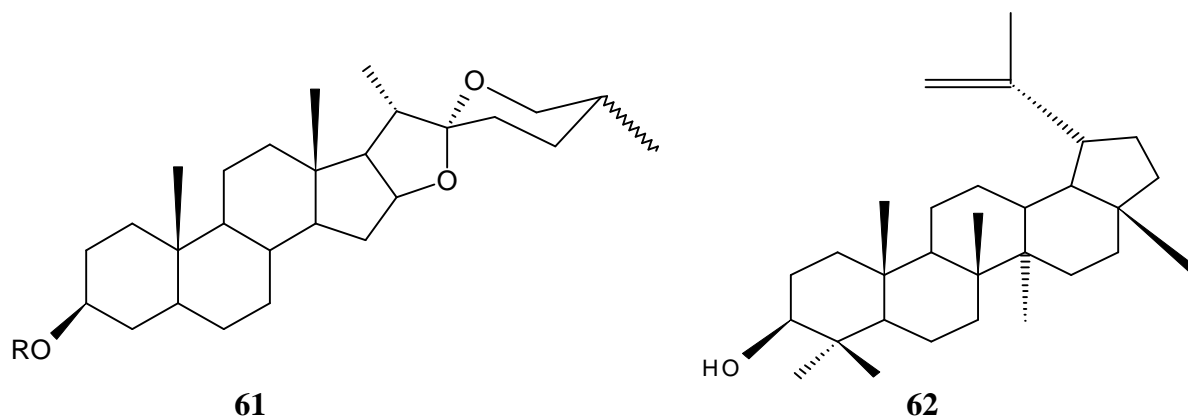
Acredita-se que os taninos atuam protegendo os vegetais contra o ataque de predadores herbívoros através da diminuição da palatabilidade, redução da digestibilidade e da formação de produtos tóxicos resultantes de sua hidrólise no trato digestivo do herbívoro (SANTOS & de MELLO, 2007).

2.2.7 - Saponinas

As saponinas são metabólitos secundários que ocorrem como glicosídeos de estróides ou terpenos policíclicos e apresentam elevada solubilidade em água, além de provocarem a ruptura de células sangüíneas (hemólise). Por serem constituídas de uma parte hidrofóbica (núcleo esteroidal ou terpênico) e uma parte hidrofílica (parte osídica) apresentam propriedades semelhantes às dos sabões, atuando na redução da tensão superficial da água além de produzirem espuma quando sob agitação, sendo esta persistente mesmo na presença de ácidos diluídos. O termo saponina provém de sua semelhança com os sabões (SCHENKEL, GOSMANN & ATHAYDE , 2007).

As saponinas quanto ao núcleo da aglicona são classificadas em esteroidais e terpênicas, quanto ao número de cadeias de açúcar presentes, são classificadas em monodesmosídicas, bidesmosídicas, tridesmosídicas e assim por diante, quanto ao caráter em solução são classificadas em ácidas, neutras e básicas, sendo característico destas últimas a presença de nitrogênio em sua estrutura (SCHENKEL, GOSMANN & ATHAYDE , 2007).

A figura 30 mostra o núcleo fundamental do espirostano (61), um tipo de saponina esteroidal, e o núcleo fundamental do lupeol (62), uma saponina terpênica.

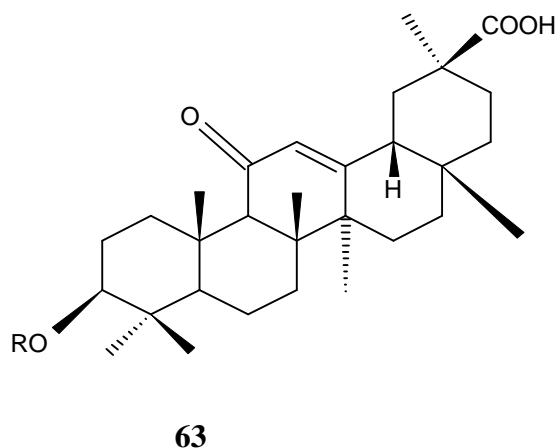


Fonte: Schenkel, Gosmann & Athayde , 2007.

FIGURA 30: Núcleo dos tipos espirostando e lupeol.

Várias atividades biológicas são atribuídas às saponinas, as quais são devidas à sua capacidade de complexação com esteróides, proteínas e fosfolipídios. Dentre as atividades biológicas apresentadas por estes metabólitos secundários destaca-se as atividades hemolítica, molusquicida, anti-helmíntica, espermicida, hipocolesterolemiantes e antiinflamatória, como exemplo de espécies ricas em saponinas cita-se: o alcaçuz (*Glycyrrhiza glabra*), ginseng (*Panax ginseng*) e a calêndula (*Calendula officinalis*) (SCHENKEL, GOSMANN & ATHAYDE , 2007).

A figura 31 mostra a estrutura da glicirrizina (63), a saponina majoritária do alcaçuz, a qual apresenta atividade antiinflamatória.



Fonte: Schenkel, Gosmann & Athayde , 2007.

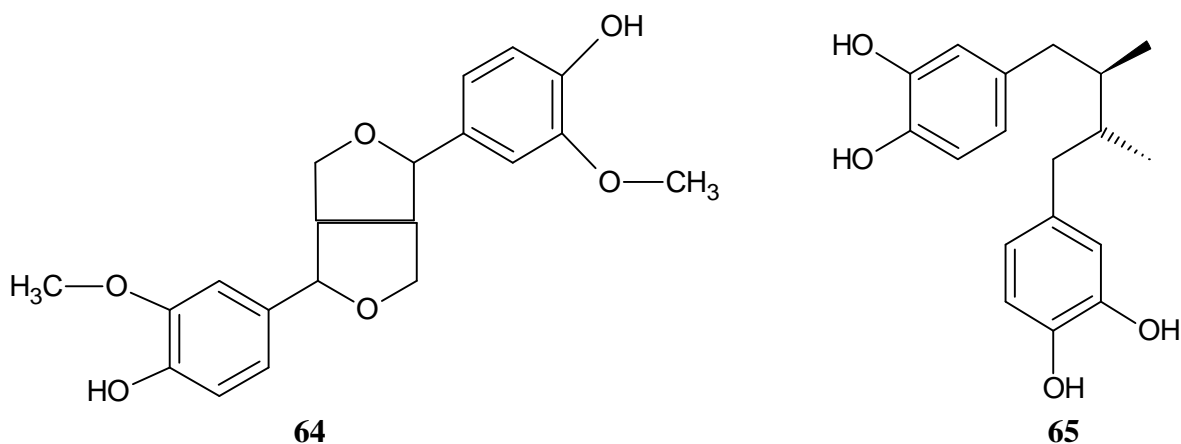
FIGURA 31: Estrutura da glicirrizina.

2.2.8 - Ligninas e lignanas

As ligninas e lignanas representam uma importante e abrangente classe de metabólitos secundários. Sendo amplamente encontradas no reino vegetal. Destacando-se as ligninas, que são depositadas na parede da célula vegetal lhe conferindo rigidez, sendo o segundo maior constituinte existente, atrás apenas dos carboidratos (RAVEN *et al.*, 2001).

Segundo Barbosa Filho (2007) os lignóides são micromoléculas formadas pelo esqueleto fenilpropânico (C₆-C₃)_n sendo n restrito a poucas unidades. Os principais tipos de lignóides são as lignanas, as ligninas, as neolignanas, as alolignanas, as norlignanas, os oligolignóides e os heterolignóides, sendo que os dois primeiros são os de maior ocorrência. As lignanas são dímeros resultantes do acoplamento oxidativo de álcoois cinâmicos entre si ou com ácidos cinâmicos. As ligninas são macromoléculas formadas pela condensação polimérica de unidades fenilpropânicas (C₆-C₃).

A figura 32 apresenta a estrutura do pinosresinol (64) uma lignana e do ácido nordi-hidroguaiarético (65) uma neolignana.



Fonte: Barbosa-Filho, 2007.

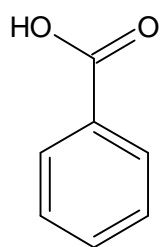
FIGURA 32: Estrutura do pinosresinol, uma lignana e ácido nordi-hidroguaiarético uma neolignana.

Dentre as funções das lignanas nos vegetais cita-se a proteção contra insetos. Observa-se um maior acúmulo de neolignanas quando o vegetal é atacado por organismos patogênicos e/ou lesionado por estímulos mecânicos. Diversas atividades biológicas como antitumoral, antifúngica, antioxidante, dentre outras têm sido atribuídas a lignanas, o ácido nordi-hidroguaiarético é uma neolignana que apresenta estas três atividades biológicas (BARBOSA FILHO, 2007).

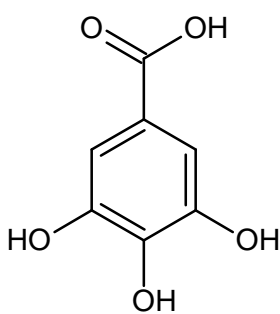
2.2.9 - Compostos fenólicos simples e heterosídicos

Os metabólitos secundários são em sua maioria compostos fenólicos ou seja apresentam em sua estrutura pelo menos um anel aromático ao qual encontra-se ligado um ou mais grupos hidroxila (OH⁻). Exemplos de classes de compostos fenólicos oriundos do metabolismo secundário vegetal são: os taninos, os flavonóides, as lignanas, as antraquinonas, dentre outras. Tais classes são compostos fenólicos complexos e apresentam uma grande variedade estrutural (dos SANTOS, 2007).

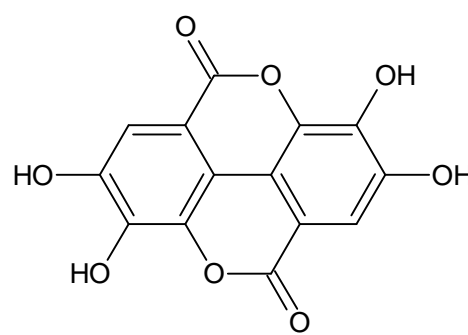
Os metabólitos secundários conhecidos por compostos fenólicos simples são derivados do ácido benzóico (66) dentre eles os ácidos gálico (67) e elágico (68) que são constituintes dos taninos hidrolisáveis, e os derivados do ácido cinâmico (41) como os ácidos p-cumárico (69), caféico (70) e ferúlico (71) (CARVALHO, GOSMANN & SCHENKEL, 2007).



66



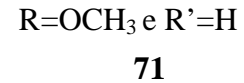
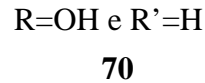
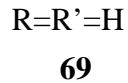
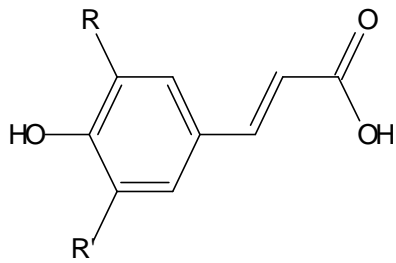
67



68

Fonte: Carvalho, Gosmann & Schenkel, 2007.

FIGURA 33 : Estrutura dos ácidos benzóico, gálico e elágico.



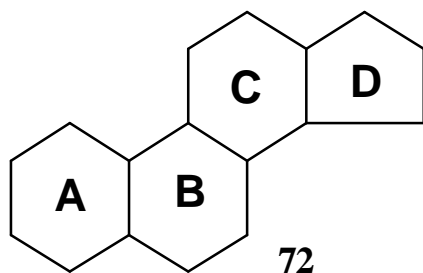
Fonte: Carvalho, Gosmann & Schenkel, 2007

FIGURA 34: Estrutura dos ácidos p-cumárico, caféico e ferúlico.

Os compostos fenólicos podem ocorrer sob a forma simples ou heterosídica (ligado à unidades de açúcares) ou ainda sob a forma de ésteres, ocorrendo predominantemente sob as duas últimas formas. Nos vegetais desempenham funções diversas como: proteção contra predadores, inibição da germinação de sementes e inibição do crescimento de outras espécies (alelopatia). Dentre as atividades biológicas atribuídas a estes compostos cita-se antioxidante, antibacteriana e antiviral (CARVALHO, GOSMANN & SCHENKEL, 2007).

2.2.10 - Heterosídeos cardioativos

Os heterosídeos cardioativos são esteróides que ocorrem sob a forma de heterosídeos e que exercem ação sobre o músculo cardíaco. Nos vegetais apresentam ocorrência restrita às angiospermas donde ocorrem em pequena concentração, podendo no entanto ser encontrados em determinadas espécies animais. Apresentam um núcleo esteroidal tetracíclico (72) ao qual encontra-se ligadas as unidades de açúcares (RATES & BRIDI, 2007).

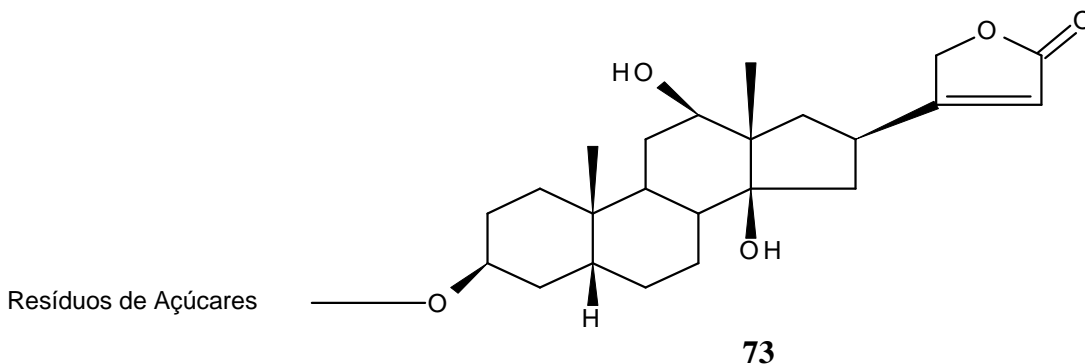


Fonte: Rates & Bridi, 2007.

FIGURA 35: Núcleo esteroidal tetracíclico dos heterosídeos cardioativos.

Os heterosídeos em geral são mais ativos que suas respectivas agliconas (forma livre), apesar dessas serem as responsáveis pela atividade cardiotônica a parte osídica (açúcar) lhe confere maior solubilidade aumentando sua absorção pelo organismo (FRAGA & BARREIRO, 1996).

A digoxina (73) é o heterosídeo cardioativo mais empregado na terapêutica sendo prescrita principalmente em casos de insuficiência cardíaca congestiva, tal substância é isolada de algumas espécies do gênero *Digitalis* (RATES & BRIDI, 2007).



Fonte: Rates & Bridi, 2007.

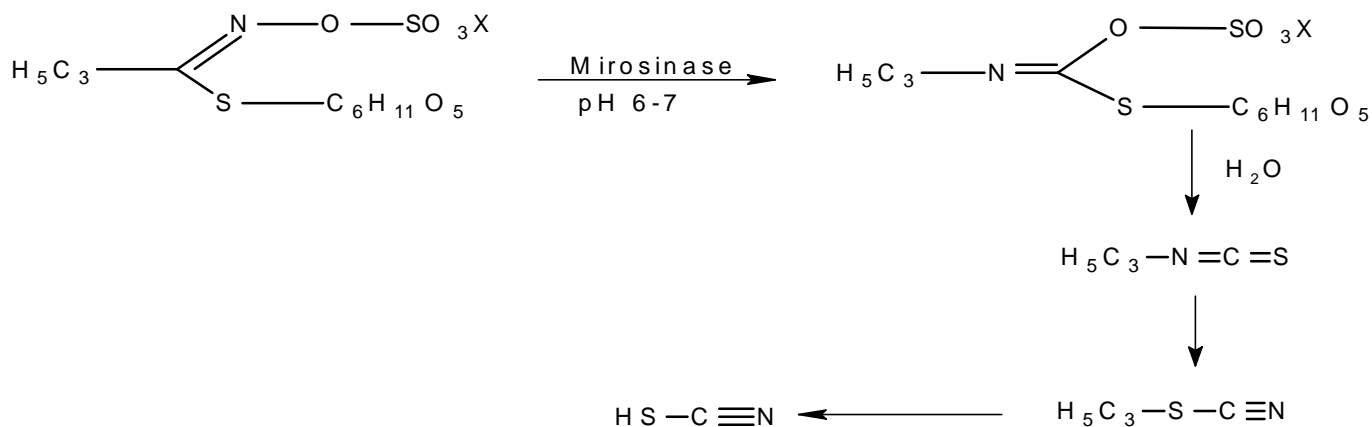
FIGURA 36: Estrutura da digoxina.

2.2.11 - Compostos Sulfurados

Os metabólitos sulfurados são aqueles que apresentam enxofre em sua estrutura, são todos derivados dos aminoácidos metionina, fenilalanina, tirosina e triptofano, são produzidos principalmente por espécies utilizadas como condimentares, como o alho e a cebola. Quando sob a forma de glicosídeos são denominados glicosinolatos, que após

hidrólise enzimática produzem isotiocianato que por sua vez pode gerar ácido tiosulfônico (HSCN) extremamente tóxico (HEINZMANN, 2007).

A figura 37 mostra a transformação do glicosinolato sinigrina em ácido tiosulfônico.



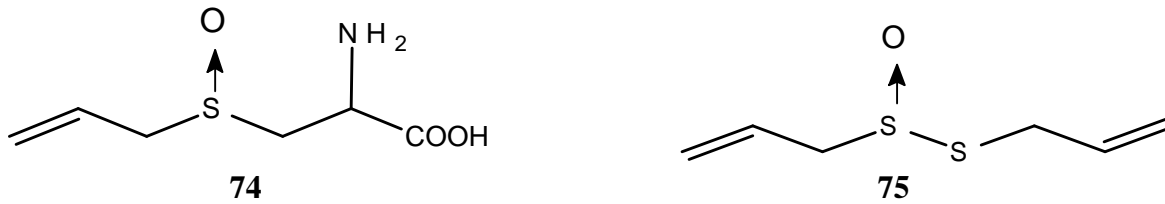
Fonte: Heinzmann, 2007.

FIGURA 37: Transformação da sinigrina em ácido tiosulfônico.

As espécies que produzem glicosinolatos também produzem as enzimas necessárias para sua degradação, enzimas estas que ficam armazenadas em compartimentos isolados dos glicosinolatos entrando em contato com estes somente quando os tecidos do vegetal são lesados (dos SANTOS, 2007).

Dentre as atividades biológicas apresentadas por esta classe de metabólito cita-se : antimicrobiana, repelente de insetos e antimicótica. Muitos glicosinolatos são biologicamente ativos porém em grande parte das vezes os compostos com atividade biológica resultam de sua hidrólise enzimática. Como exemplo de espécies ricas em metabólitos sulfurados tem-se a mostarda (*Brassica nigra*) e o alho (*Allium sativum*) (HEINZMANN, 2007).

Nos bulbos do alho encontra-se a aliina (74) sem odor característico, quando o tecido do bulbo é lesionado mecanicamente, amassado por exemplo, a aliinase enzima responsável pela degradação da aliina (75) entra em contato com esta transformando-a em alicina, substância que confere o odor característico do alho (HEINZMANN, 2007).



Fonte: Heinzmann, 2007.

FIGURA 38: Estrutura da aliina e alicina.

2.3 - Análise fitoquímica

Dentre os estudos científicos realizados com espécies vegetais de interesse, destacam-se os estudos fitoquímicos, os quais permitem identificar e/ou avaliar a presença de constituintes químicos dos vegetais, tais estudos têm tornado possível a identificação de compostos de grande interesse terapêutico. Quando não se conhece a natureza dos metabólitos presentes na espécie estudada realiza-se a análise fitoquímica preliminar, que permite caracterizar as classes de metabólitos e posteriormente adotar a metodologia adequada para seu estudo (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007).

A análise fitoquímica envolve várias etapas, as quais são apresentadas a seguir.

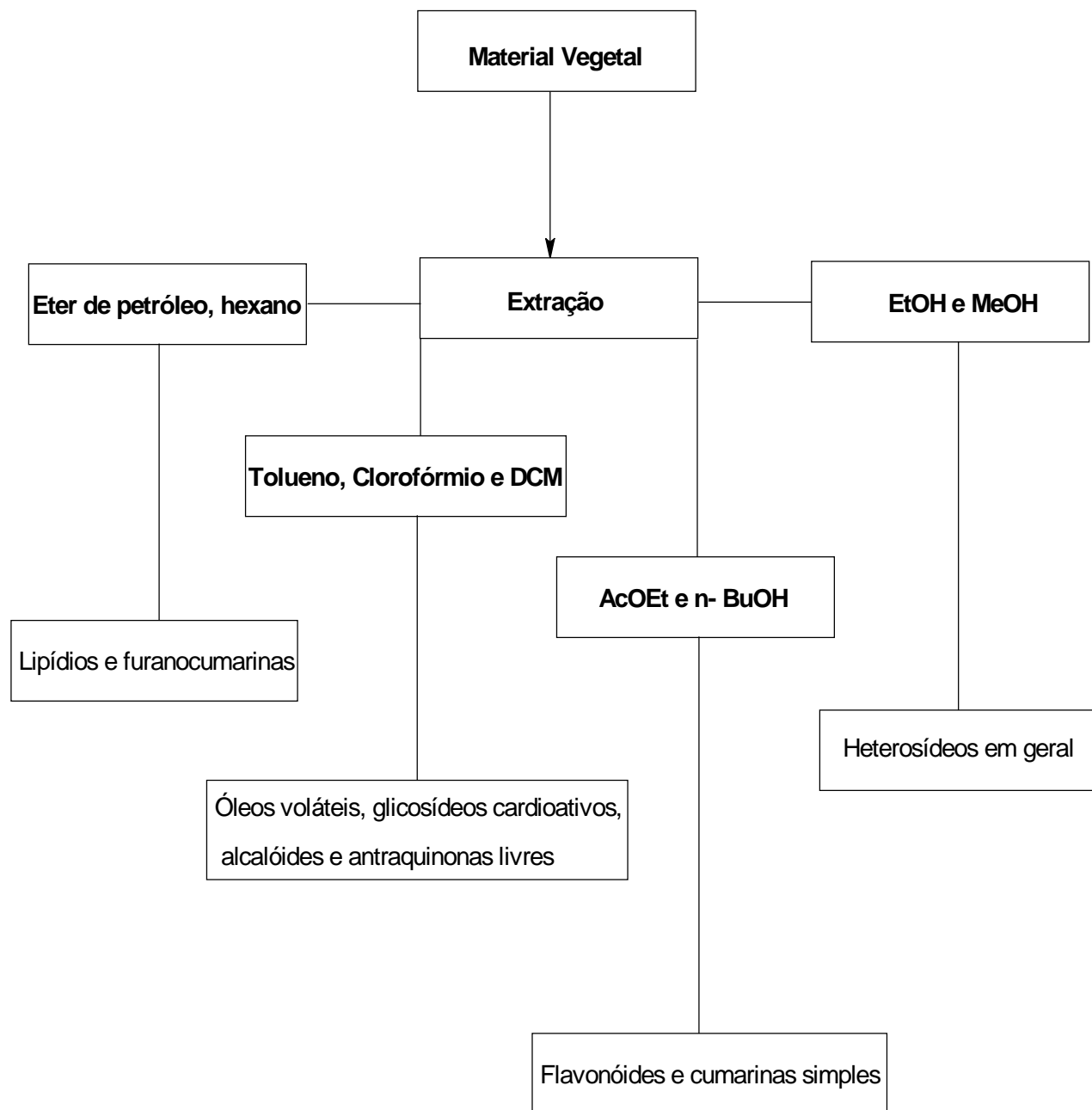
I) Escolha da espécie vegetal a ser estudada – segundo Maciel *et al.* (2002) a espécie vegetal a ser estudada em geral é escolhida seguindo a abordagem randômica, a abordagem quimiotaxonômica ou filogenética ou a abordagem etnofarmacológica, na primeira a escolhe-se a espécie ao acaso, considerando-se apenas sua disponibilidade, na segunda considera-se a presença de uma dada classe de metabólito em um gênero ou família botânica como determinante para a escolha, no último caso a espécie é selecionada considerando-se seu emprego farmacêutico por um determinado grupo étnico, sendo esta a abordagem mais frequentemente utilizada.

II) Coleta – nesta etapa retira-se de seu hábitat natural amostras da espécie vegetal a ser estudada, algumas precauções devem ser tomadas como: coletar espécimes em bom estado de conservação (sem partes afetadas), tomar o cuidado de não coletar amostras que não sejam da espécie a ser estudada, registrar o local, a data e o horário da coleta (MENTZ & BORDIGNON, 2007).

III) Identificação e Herborização – para que os resultados do estudo fitoquímico sejam validados a espécie estudada deve ser corretamente identificada e uma amostra desta adicionada a um herbário, para caso posteriormente houver necessidade de se comprovar sua classificação botânica (MENTZ & BORDIGNON, 2007).

IV) Preparo do material vegetal – a análise fitoquímica pode ser realizada com o vegetal fresco ou seco, deve-se utilizar o vegetal fresco somente quando a análise for imediata à coleta. Geralmente a análise fitoquímica é realizada com o vegetal seco devido à sua maior estabilidade química, nesse caso deve-se realizar a secagem do material vegetal, que tem a finalidade de retirar a água do vegetal, impedindo assim possíveis reações de hidrólise e o crescimento microbiano (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007). A secagem pode ser realizada ao sol, à sombra ou em estufa com circulação de ar, sendo o primeiro caso desaconselhável devido à possibilidade de fotólise dos metabólitos vegetais (MACIEL *et al.*, 2002). Após o processo de secagem procede-se ao processo de moagem do material vegetal, tal etapa tem como finalidade tornar o processo de extração mais eficiente através do aumento da superfície de contato entre o vegetal e o solvente, a moagem além de aumentar a eficiência, diminui o tempo do processo de extração (MENTZ & BORDIGNON, 2007).

V) Extração – segundo Falkenberg, dos Santos & Simões (2007) no processo de extração as substâncias contidas no material vegetal são extraídas por um ou uma mistura de solventes extratores, o solvente a ser empregado deve apresentar alta seletividade, a fim de que somente as classes de metabólitos de interesse sejam extraídas. De acordo com Cechinel-Filho & Yunes (1998) quando não se conhece as classes de metabólitos contidos no vegetal, a extração com uma mistura hidroalcoólica à 50% (água/etanol 1:1) é a mais indicada. O processo de extração pode ser realizado à quente ou a frio sendo que no primeiro o processo é mais rápido devido ao aumento da solubilidade dos metabólitos, os metabólitos são extraídos de acordo com sua afinidade pelo solvente empregado, em geral solventes apolares extraem preferencialmente metabólitos com caráter apolar, enquanto metabólitos polares são extraídos por solventes de maior polaridade (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007).



DCM = Diclorometano; AcOEt = Acetato de Etila; n-BuOH = n- Butanol; MeOH = metanol; EtOH = Etanol.

Fonte: Falkenberg, dos Santos & Simões, 2007.

FIGURA 39: Principais solventes e classes de metabólitos extraídas.

VI) Fracionamento, isolamento e purificação de substâncias – nesta etapa os metabólitos vegetais são fracionados, isolados e purificados para posteriormente terem suas estruturas elucidadas. O fracionamento é geralmente realizado pela partição com solventes orgânicos de polaridade crescente, tal processo trata-se de um método de extração líquido-líquido, no qual os metabólitos são extraídos de acordo com sua solubilidade nos solventes empregados. O isolamento e purificação dos metabólitos em geral é realizado através de métodos cromatográficos em suas mais diversas variações como cromatografia gasosa, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia em camada delgada, dentre outras (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007).

VII) Elucidação estrutural – a elucidação estrutural é a última etapa da análise fitoquímica. Segundo Falkenberg, dos Santos & Simões (2007) os dados obtidos pelo emprego principalmente de técnicas como as espectroscopias UV-visível, infravermelho, e de ressonância magnética nuclear além da espectrometria de massa possibilitam a proposição da estrutura química dos metabólitos isolados da espécie vegetal estudada.

2.3.1 - Técnicas Instrumentais de emprego na análise fitoquímica

A análise fitoquímica envolve várias etapas, dentre as quais o fracionamento, isolamento e elucidação estrutural dos compostos oriundos do metabolismo vegetal merecem destaque. Os químicos orgânicos, em especial, os fitoquímicos atualmente dispõem de poderosas técnicas instrumentais que aliadas à sua experiência têm permitido o avanço da fitoquímica enquanto ciência. Dentre as principais técnicas instrumentais de uso corrente na análise fitoquímica destaca-se : a cromatografia, a espectrometria de massa, a ressonância magnética nuclear e as espectroscopias no ultravioleta-visível e no infravermelho. É importante considerar que na análise de metabólitos vegetais qualquer uma destas técnicas empregadas isoladamente não é suficiente por si só para permitir a elucidação correta destes, mas sim o emprego delas em conjunto (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007).

2.3.1.1 - Cromatografia

A cromatografia é uma poderosa técnica de separação de misturas. Foi criada pelo botânico russo Mikhail Tswett que ao passar soluções de pigmentos vegetais em uma coluna de vidro contendo carbonato de cálcio (CaCO_3) observou que estas substâncias quando separadas apareciam como bandas coloridas na coluna, daí o nome da técnica (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Em todos os tipos de cromatografia há a fase móvel e a fase estacionária, a fase estacionária como o próprio nome sugere é a fase fixa a qual o analito percorre levado pela fase móvel, o que determinará a separação das substâncias do analito será a afinidade destas pela fase estacionária, pois cada substância presente na mistura apresentará uma afinidade própria por esta, quanto maior essa afinidade maior será sua retenção e menor será sua velocidade de deslocamento (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

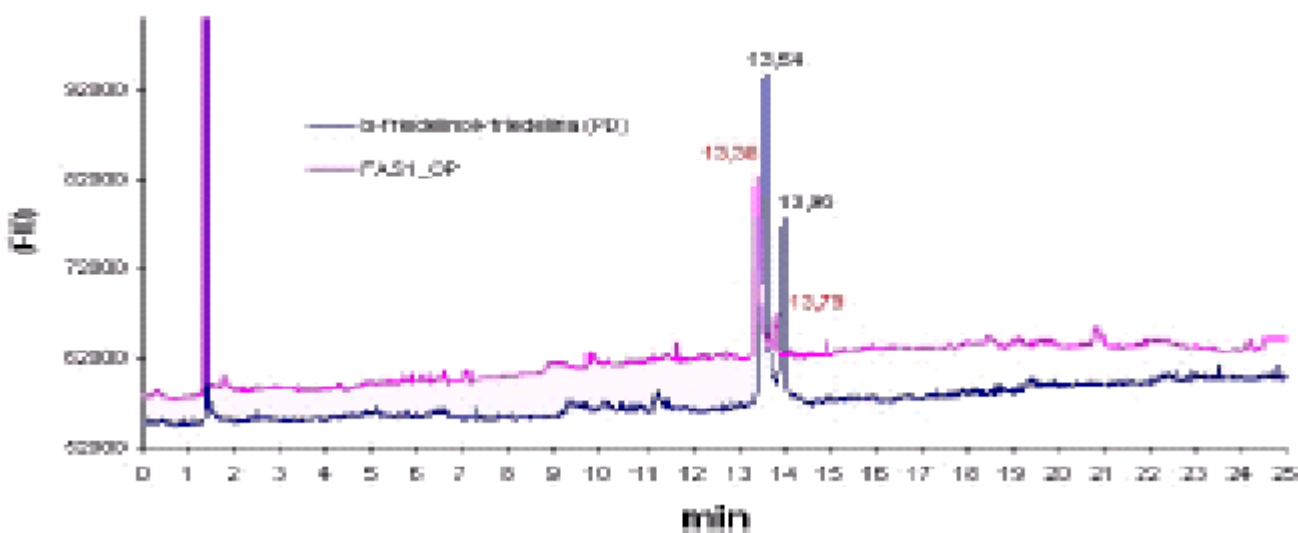
Atualmente há diversos tipos de cromatografia, todos de grande utilidade na análise fitoquímica, quanto ao meio físico dividem-se em dois tipos: planar e em coluna; quanto ao estado físico da fase móvel dividem-se em três tipos: líquida, gasosa e com fluido supercrítico. Segundo Skoog, Holler & Nieman (2002) a cromatografia pode ser empregada tanto em análises qualitativas quanto quantitativas, na primeira o tempo de retenção das substâncias da mistura é utilizado como variável para sua identificação, no segundo avalia-se a altura ou a área sob o pico apresentado pela substância no cromatograma o que permite quantificá-la. Porém a importância desta técnica instrumental deve-se principalmente ao seu emprego na separação de substâncias a serem posteriormente analisadas por métodos espectroscópicos.

As técnicas cromatográficas são de grande emprego na análise fitoquímica visto que os metabólitos vegetais apresentam-se como misturas, necessitando portanto de serem separados a fim de serem analisados. Dentre os diversos tipos de cromatografia disponíveis e utilizados na análise fitoquímica destaca-se: a cromatografia gasosa, a cromatografia líquida, cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia em camada delgada, as quais são brevemente discutidas a seguir (FALKENBERG, DOS SANTOS & SIMÕES, 2007).

2.3.1.2 - Cromatografia Gasosa

Como o próprio nome sugere, na cromatografia gasosa (CG) a fase móvel é uma substância no estado gasoso, mais precisamente um gás inerte, geralmente hélio, nitrogênio ou hidrogênio. Neste tipo de cromatografia a amostra é vaporizada e injetada no topo de uma coluna sendo em seguida arrastada pela fase móvel e de acordo com sua afinidade pela coluna (fase estacionária) deslocará mais rapidamente ou mais lentamente ao longo desta, acoplado ao cromatógrafo gasoso há sempre um detector o qual fornece um gráfico (cromatograma) que pode ser interpretado e comparado com cromatogramas existentes em uma biblioteca eletrônica, possibilitando a identificação dos compostos separados (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

A figura 40 mostra o cromatograma de uma mistura de β -friedelinol e friedelina, obtido por cromatografia gasosa.

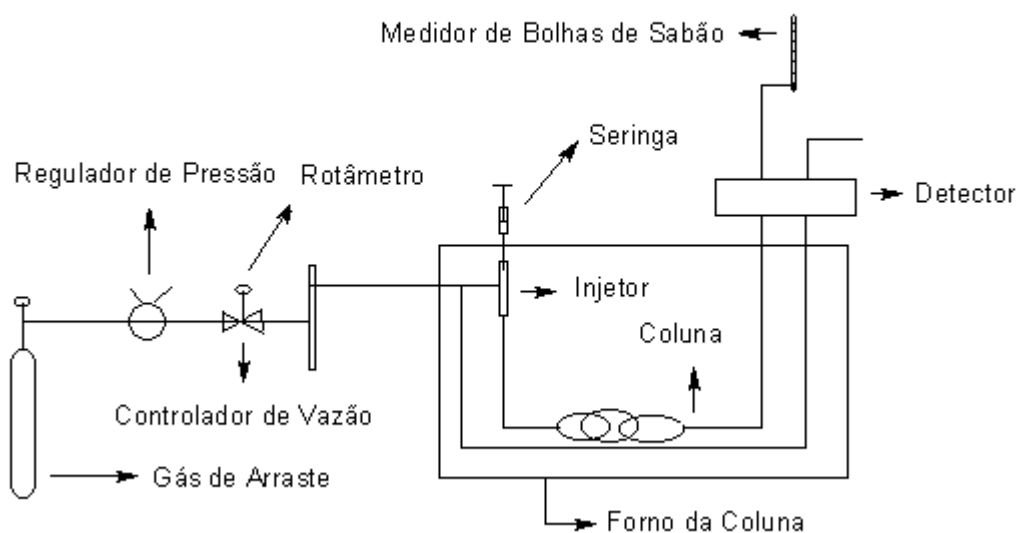


Fonte: Heleno *et al.*, 2007.

FIGURA 40: Cromatograma obtido por cromatografia gasosa de uma mistura de β -friedelinol e friedelina isolados das folhas de *Maytenus acanthophylla* e seus respectivos padrões.

A cromatografia gasosa devido ao fato de exigir que o analito seja vaporizado só é aplicável à amostras passíveis de volatilização, o que limita seu emprego. É frequente o acoplamento de um espectrômetro de massa ao cromatógrafo gasoso constituindo-se então numa técnica hifenizada (CG-EM) bastante utilizada na separação e identificação de metabólitos secundários dentre eles os óleos voláteis (FALKENBERG, dos SANTOS & SIMÕES, 2007).

A figura abaixo mostra os componentes básicos de um cromatógrafo gasoso.



Fonte: Skoog, Holler & Nieman, 2002.

FIGURA 41: Componentes básicos de um cromatógrafo gasoso.

2.3.1.3 - Cromatografia líquida em coluna

Neste tipo de cromatografia a fase estacionária é mantida em um tubo (coluna) no qual a fase móvel é forçada pela ação da gravidade a deslocar-se sobre a fase estacionária. O processo de eluição de uma coluna cromatográfica refere-se à passagem da fase móvel ao longo da fase estacionária transportando consigo as substâncias presentes na mistura, o que provoca a separação destas devido à sua afinidade pela fase estacionária (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

A cromatografia líquida em coluna é uma técnica simples, eficiente e relativamente barata (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002), sendo bastante empregada na separação de metabólitos vegetais, inclusive metabólitos primários como os lipídios (MOYNA & HEINZEN, 2007).

Na cromatografia líquida em coluna a fase estacionária geralmente é constituída por sílica gel, sephadex LH-20 ou poliamida, as fases estacionária e móvel devem ser escolhidas de acordo com a natureza da mistura a ser separada, geralmente emprega-se como fase móvel uma combinação de solventes de polaridade crescente como por exemplo no caso do fracionamento de taninos onde emprega-se o sistema etanol (EtOH), metanol (MeOH) e etanol/metanol (EtOH/MeOH) como fase móvel (SANTOS & DE MELLO, 2007).

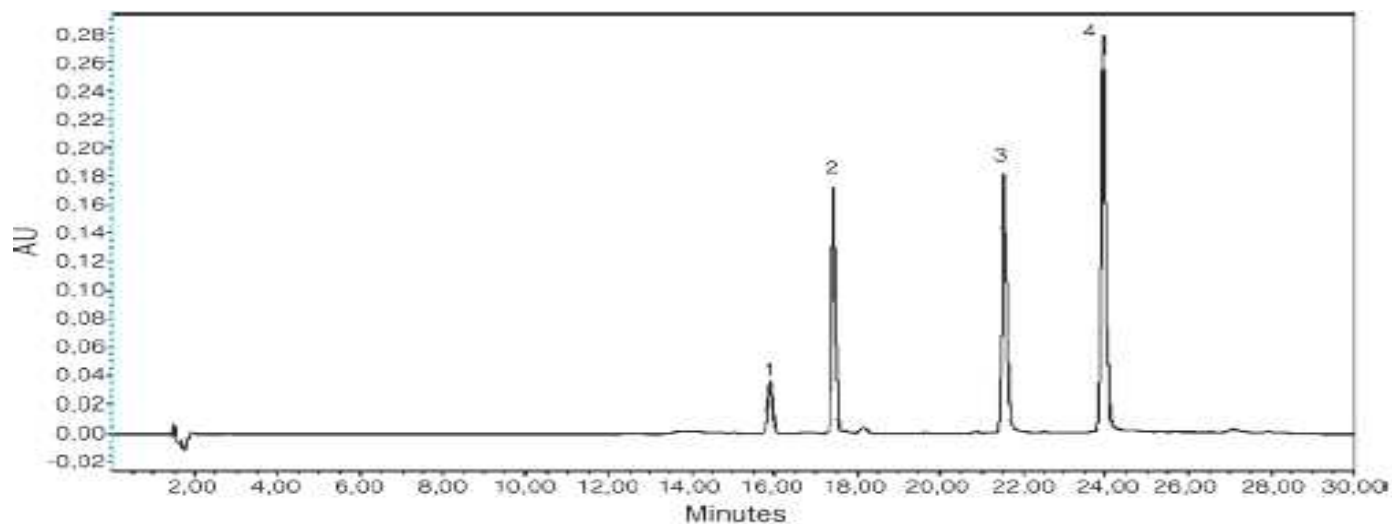
2.3.1.4 - Cromatografia líquida de alta eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma das técnicas cromatográficas mais empregadas, devido à sua eficácia e versatilidade, neste tipo de cromatografia a fase estacionária é constituída por partículas muito pequenas, sendo necessário alta pressão para a eluição da coluna, portanto uma bomba força a passagem da fase móvel ao longo da coluna. Quando a fase estacionária é polar e a fase móvel apolar denomina-se cromatografia em fase normal, quando por sua vez a fase estacionária é apolar e a fase móvel polar denomina-se cromatografia em fase reversa (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2000).

A CLAE é largamente empregada na separação de metabólitos secundários, diferentes tipos de cumarinas por exemplo, podem ser rapidamente detectados sem a necessidade de serem previamente isoladas (KUSTER & ROCHA, 2007).

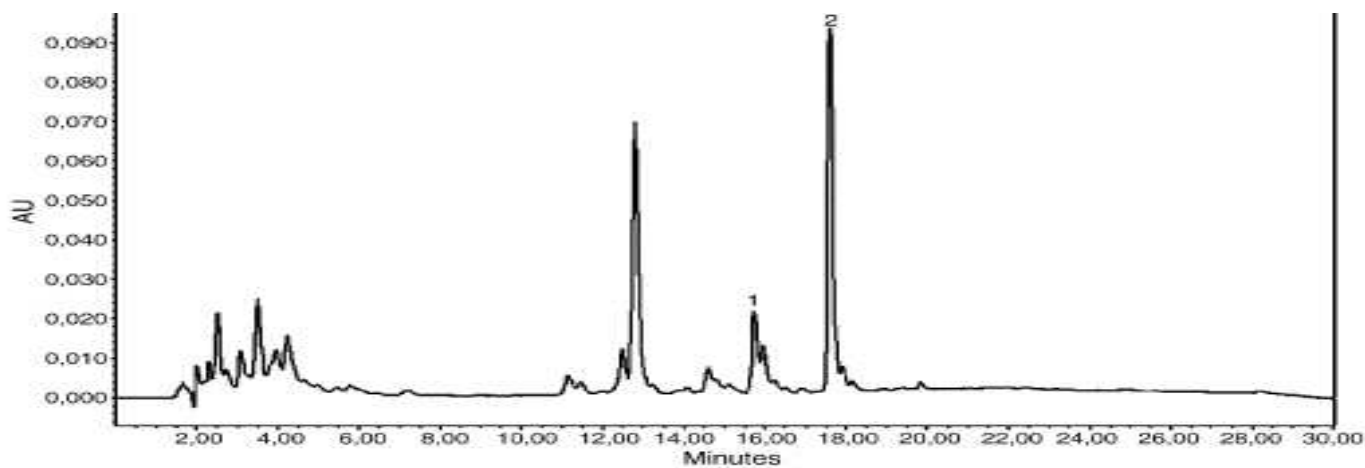
A CLAE permite a caracterização dos compostos contidos em uma mistura, pode-se injetar substâncias padrões e comparar seus cromatogramas com o cromatograma da mistura em separação, os compostos presentes na mistura se forem idênticos aos padrões injetados, apresentarão picos idênticos no cromatograma. A CLAE ao contrário da cromatografia gasosa pode ser empregada na separação de misturas contendo compostos de alto peso molecular (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Na figura 42 é mostrado o cromatograma obtido por CLAE pela injeção de padrões de quatro flavonóides. A figura 43 apresenta o cromatograma obtido pela a injeção do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia forficata*.



Fonte: Pinheiro *et al.*, 2006.

FIGURA 42: Cromatograma de padrões dos flavonóides (1) 3,7- di-*O*- α -L-ramnopiranosilquercetina, (2) campferitrina, (3) quercetina, (4) canferol.



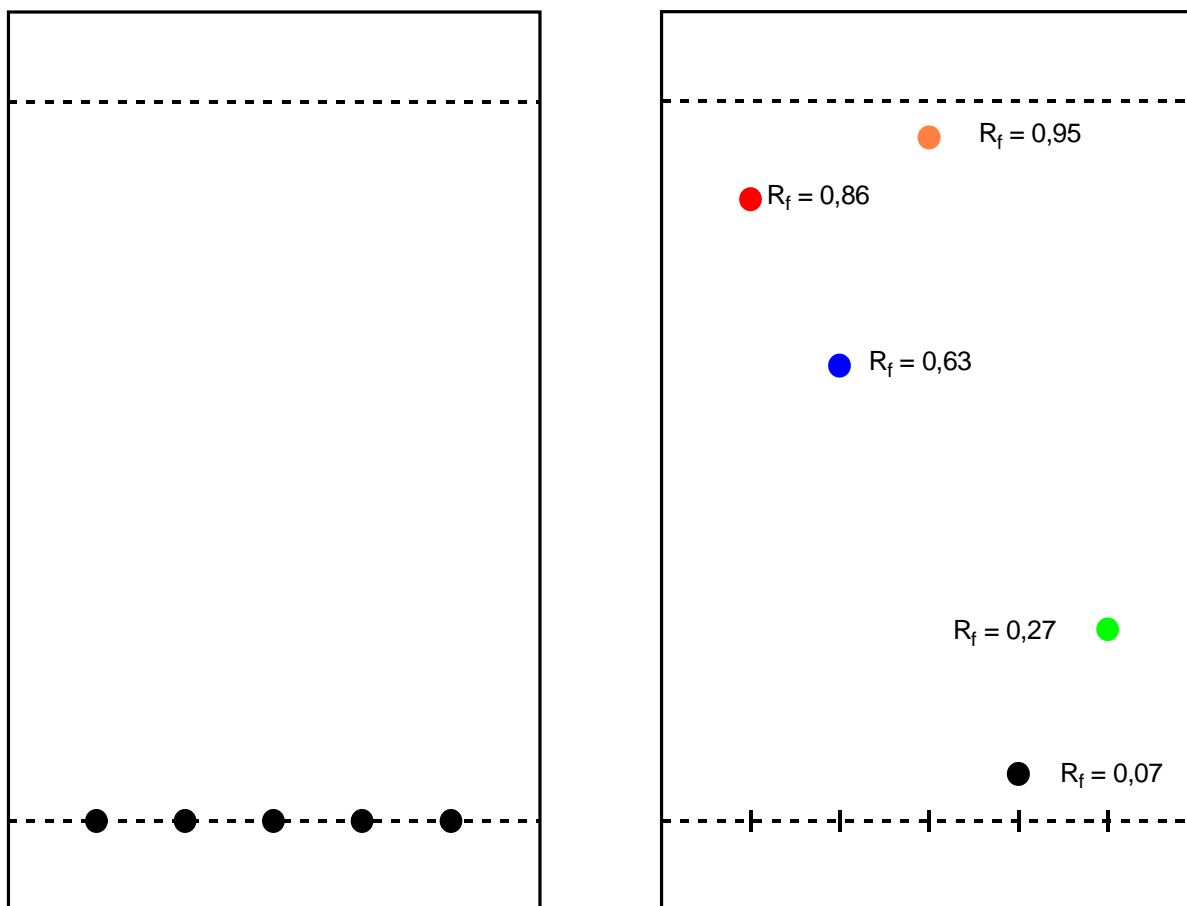
Fonte: Pinheiro *et al.*, 2006.

FIGURA 43: Cromatograma do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia forficata*.

2.3.1.5 - Cromatografia em camada delgada

A cromatografia em camada delgada (CCD) trata-se de um tipo de cromatografia planar, no qual a fase estacionária encontra-se espalhada sobre uma superfície plana (placa), que é eluída pela fase móvel (solvente) em um recipiente fechado denominado cuba, as substâncias presentes na amostra percorrem a placa de acordo com sua afinidade pela fase estacionária (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2000).

A figura 44 mostra o esquema de uma placa de CCD antes eluição e após a eluição, cada ponto colorido na placa representa uma substância diferente, é mostrado também o valor do fator de retenção (R_f), observa-se que quanto mais próximo da base uma substância estiver, menor é seu R_f e maior sua afinidade pela fase estacionária.

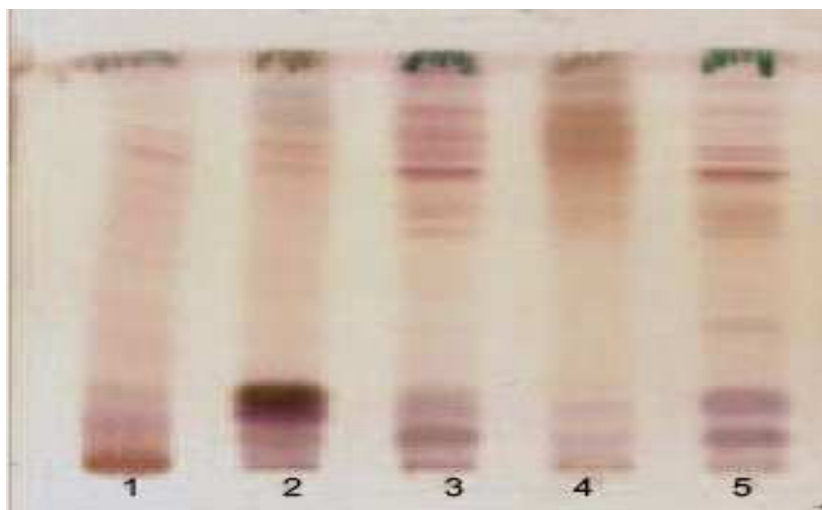


Fonte: ChemDraw Ultra 8.0

FIGURA 44: Placa de CCD antes e após a eluição.

A CCD pode ser utilizada tanto em análises qualitativas quanto quantitativas, na primeira analisa-se o fator de retenção (Rf) dos compostos na placa comparando-os com os Rf de padrões, no segundo observa-se o tamanho da área da mancha das substâncias do analito, comparando-o com o tamanho da área de padrões. Geralmente a CCD é empregada em análises prévias à cromatografia em coluna (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

A figura 45 mostra uma placa de CCD de extratos brutos vegetais diversos no qual avaliou-se a presença de glicolipídios.



Fonte: Mendes, Machado & Falkenberg, 2006.

FIGURA 45: Placa de CCD de extratos brutos vegetais.

A CCD é uma técnica bastante empregada na análise fitoquímica, sendo empregada na análise de diversas classes de metabólitos como os flavonóides os quais podem ser detectados pela exposição da placa eluída à luz ultravioleta, manchas fluorescentes na placa evidenciam a presença destes (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007).

2.3.1.6 - Espectrometria de massa atômica

A espectrometria de massa atômica (EM) é uma técnica instrumental bastante utilizada em diversas áreas, sendo empregada principalmente na determinação e quantificação de agrotóxicos no meio ambiente, caracterização de produtos sintéticos e pesquisa de produtos de origem natural (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

A espectrometria de massa fornece informações importantes sobre o analito como sua massa molecular e conseqüentemente sua fórmula molecular. A técnica baseia-se no princípio de que as moléculas de uma amostra quando bombardeadas em fase gasosa por um feixe de elétrons, fragmentam-se em pedaços menores, que são separados de acordo com sua razão massa/carga (m/z) e o resultado plotado em um gráfico (espectro) que permite a análise do peso molecular da amostra (FORTES, 2006).

Os fragmentos gerados pelo bombardeamento das moléculas do analito aparecem como picos no espectro, o pico que apresenta maior razão massa/carga (m/z) corresponde à molécula antes de ser fragmentada, ao pico que apresenta a segunda maior massa dá-se o nome de íon molecular, o qual representa o maior fragmento resultante da fragmentação da molécula. Cada composto tem sua maneira própria de fragmentar, observando-se o padrão de fragmentação de um composto muitas das vezes é possível prever algo sobre sua estrutura (ALLINGER *et al.*, 1976).

A espectrometria de massa é bastante empregada na análise fitoquímica sendo frequente seu acoplamento à cromatografia gasosa constituindo a técnica hifenizada CG-EM que é utilizada na caracterização de metabólitos como os óleos voláteis, a identificação é feita geralmente através da comparação do espectro obtido com os espectros fornecidos por uma biblioteca eletrônica (SIMÕES & SPITZER, 2007).

2.3.1.7 - Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho (IV) é a técnica que utiliza a radiação da região do infravermelho do espectro eletromagnético na excitação das moléculas. Na espectroscopia IV as moléculas do analito são atravessadas pela radiação infravermelha absorvendo parte desta, a quantidade absorvida depende do tipo da molécula, sendo assim é possível identificar o (s) grupo (s) funcional (is) presente (s) na molécula (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Quando uma molécula absorve radiação infravermelha esta provoca sua vibração, e parte desta radiação passa pela molécula sem ser absorvida, um espectro de IV relaciona a frequência da onda com a quantidade de radiação que passa pela amostra sem ser absorvida (transmitância). O tipo de grupo funcional presente na molécula é que determinará a que

freqüência a radiação será absorvida, observa-se por exemplo que moléculas que apresentam a função cetona apresentam forte absorção na freqüência de 1715 cm^{-1} , enquanto ligações simples (alcanos) apresentam fraca absorção na faixa entre 2850 e 2970 cm^{-1} (ALLINGER *et al.*, 1976).

A tabela 1 apresenta os intervalos de freqüência de absorção de alguns grupos funcionais.

TABELA 1: Intervalo de freqüência de absorção de alguns grupos funcionais no IV.

Grupo Funcional	Intervalo de Freqüência de Absorção (cm^{-1})
Alcanos	2850 – 2970
Alcenos	3010 – 3095
Álcoois e Fenóis Monomericos	3590 – 3650
Aldeídos, Cetonas e Ác. Carboxílicos	1690 – 1760
Aminas e Amidas	3300 – 3500

Fonte: Skoog, Holler & Nieman, 2002.

A espectroscopia IV é bastante empregada na análise fitoquímica pois possibilita a identificação dos grupos funcionais presentes e a consequente determinação da classe do metabólito analisado. As quinonas por exemplo apresentam forte absorção na faixa de 1630 à 1700 cm^{-1} o que pode ser utilizado em sua caracterização (FALKENBERG, 2007), a espectroscopia IV é também empregada na determinação da configuração (*cis* ou *trans*) de alguns tipos de lipídios (MOYNA & HEINZEN, 2007).

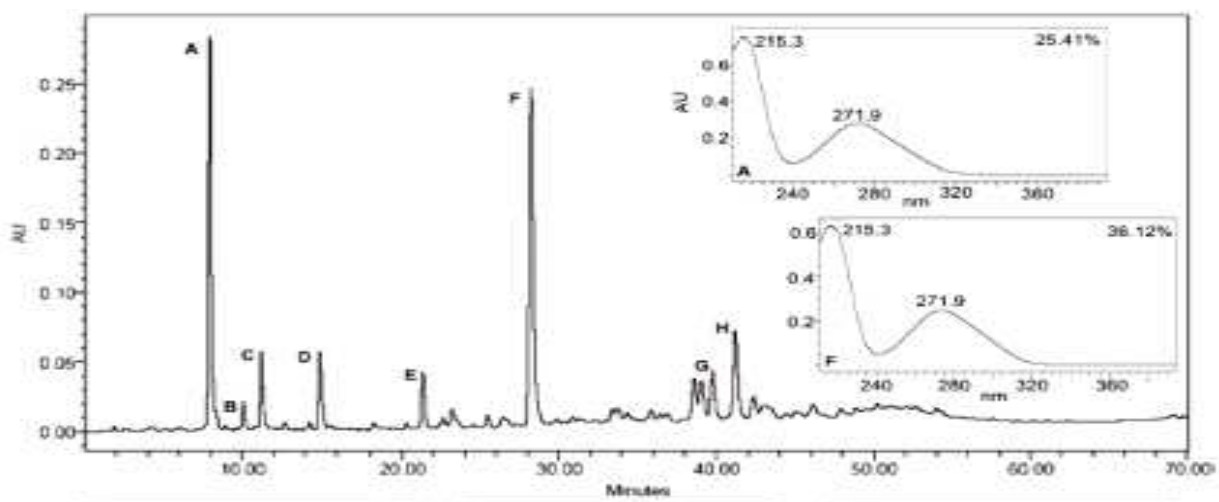
2.3.1.8 - Espectroscopia no ultravioleta-visível

A espectroscopia na região do ultravioleta e visível (UV-Visível) do espectro eletromagnético é uma técnica instrumental de grande utilidade que permite a identificação da presença de ligações insaturadas nas moléculas do composto analisado, além de certos tipos de grupos funcionais. Baseia-se no princípio de que as moléculas de um composto quando atingidas por radiação UV-Visível absorvem parte desta e tem seus elétrons excitados a um nível mais alto de energia, a energia envolvida é característica do tipo de excitação que a molécula sofre, a qual é dependente de seu tipo, sendo assim moléculas que apresentam diferentes grupos funcionais, ligações duplas ou simples por exemplo

apresentarão absorção em comprimentos de onda diferentes (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

A espectroscopia UV-Visível em muitas das vezes é utilizada acoplada à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), sendo bastante empregada na análise fitoquímica de metabólitos secundários como as cumarinas, as quais apresentam espectro UV-Visível característicos (KUSTER & ROCHA, 2007).

A figura 46 mostra o cromatograma obtido por CLAE-UV do extrato hidroetanólico das folhas de *Bauhinia microstachya*, analisado a 270nm.



Fonte: da Silva *et al.*, 2007.

FIGURA 46 : Cromatograma obtido por CLAE com detector UV para o extrato hidroetanólico das folhas de *Bauhinia microstachya*.

A espectroscopia UV-Visível é a principal técnica utilizada na detecção de flavonóides, visto que estes apresentam espectros característicos devido à presença de grupos próprios de cada tipo de flavonóide, os flavonóis por exemplo, apresentam forte banda de absorção no intervalo de comprimento de onda de 352 à 385 nm (ZUANAZZI & MONTANHA, 2007).

2.3.1.9 - Espectroscopia de ressonância magnética nuclear

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) é uma das técnicas mais poderosas na determinação da estrutura de compostos orgânicos, sendo empregada em diversas áreas. Tal técnica utiliza a energia eletromagnética na região de radiofrequência para estimular núcleos atômicos, sendo aplicável à todos os elementos que apresentam número ímpar de elétrons, porém predomina a espectroscopia de C^{13} e H^1 onde o último prepondera (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Um espectro de RMN retrata a relação entre a frequência de campo na qual um núcleo absorve e o seu deslocamento químico, este último depende do ambiente químico no qual o núcleo está inserido, em geral núcleos que encontram-se próximos de elementos eletronegativos absorvem em campos mais baixos, portanto a intensidade do campo no qual um núcleo de H ligado ao oxigênio será diferente daquela apresentada por um núcleo de H ligado ao carbono, o que pode ser utilizado para diferenciar o ambiente químico do núcleo analisado (ALLINGER *et al.*, 1976).

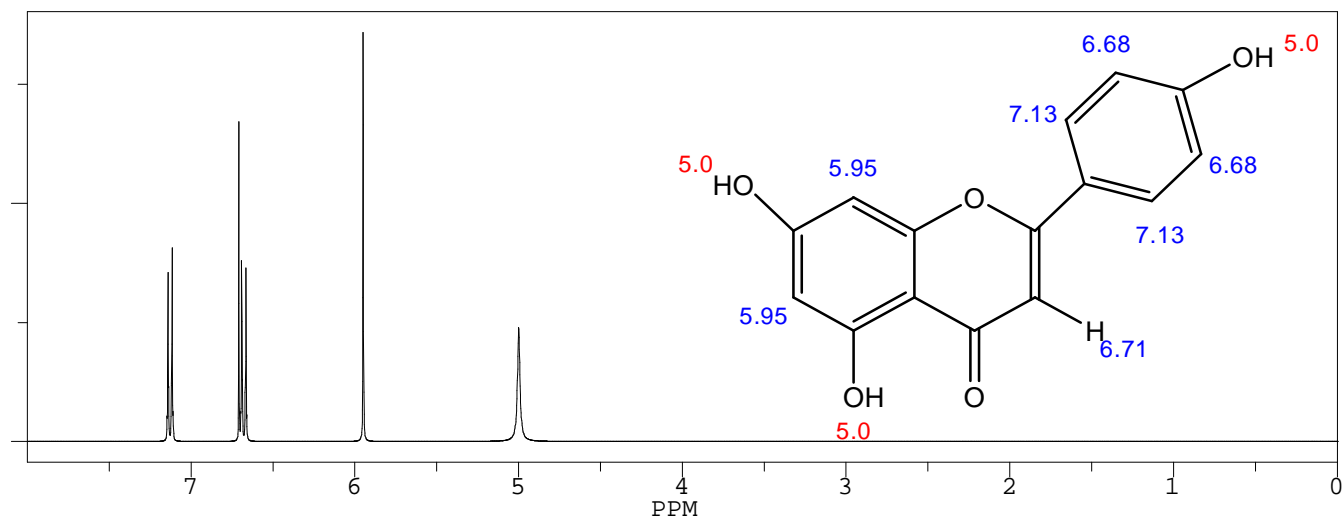
Segundo Skoog, Holler & Nieman (2002) além da influência dos elementos diretamente ligado ao núcleo observado H^1 ou C^{13} , devido à uma interação denominada spin-spin este sofre também influência de H^1 e C^{13} adjacentes, aparecendo como picos múltiplos no espectro, sendo o número de picos representados por $n + 1$, onde n refere-se a quantidade de núcleos adjacentes, portanto no espectro de RMN de H^1 a observação de um triplete (três picos) por exemplo indica a presença de dois H^1 adjacentes ao núcleo analisado.

A espectroscopia de RMN de C^{13} apresenta a vantagem de fornecer informações sobre o esqueleto da molécula, ao contrário da RMN de H^1 que fornece informações sobre a periferia dos átomos de hidrogênio, porém é limitada devido à pequena abundância de C^{13} (SKOOG, HOLLER & NIEMAN, 2002).

Enfim, a partir da análise de um espectro de RMN pode-se obter informações como: o ambiente químico do núcleo (a partir da análise do deslocamento químico), a quantidade de núcleos vizinhos (a partir da observação da multiplicidade) e a quantidade de núcleos envolvidos (a partir da análise da área sob os picos do espectro), tais informações

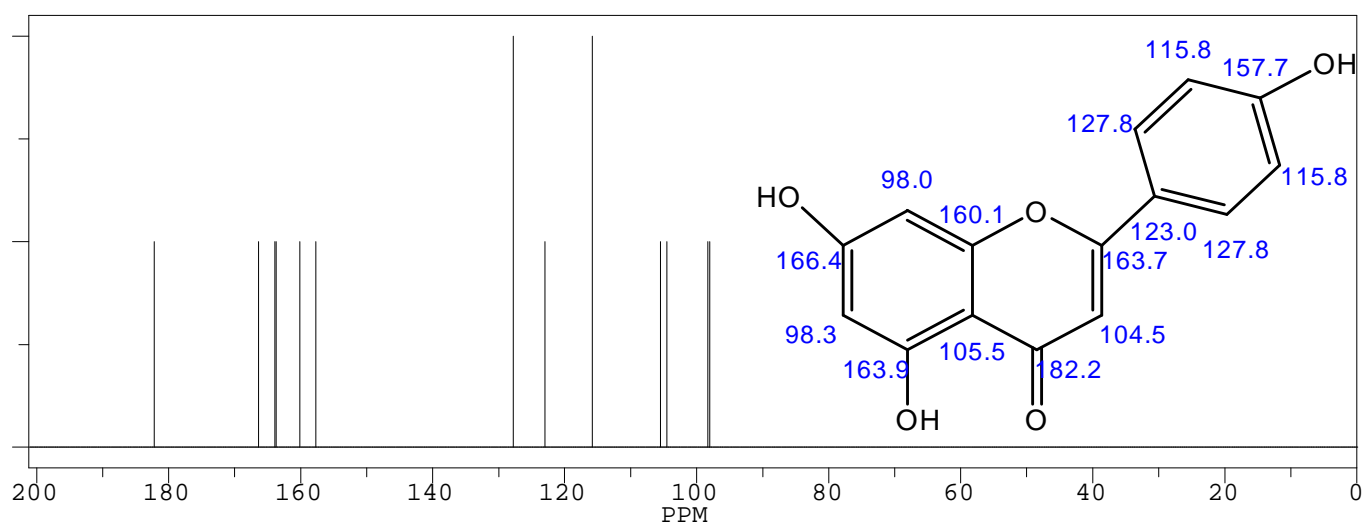
juntamente com as obtidas por outros métodos instrumentais permitem inferir com certeza a estrutura de um composto orgânico (ALLINGER *et al.*, 1976).

A figura 47 mostra o espectro de RMN de H^1 da apigenina, uma flavona, os números apresentados na estrutura do composto referem-se aos deslocamentos químicos atribuídos aos respectivos átomos de hidrogênio. A figura 48 mostra o espectro de RMN de C^{13} para o mesmo composto.



Fonte: ChemDraw Ultra 8.0

FIGURA 47: Espectro de RMN de H^1 da apigenina



Fonte: ChemDraw Ultra 8.0

FIGURA 48: Espectro de RMN de C^{13} da apigenina.

2.4 - Revisão de estudos com espécies do gênero *Bauhinia*

Dentre as espécies vegetais de interesse terapêutico destacam-se as espécies do gênero *Bauhinia* as quais são bastante empregadas na medicina popular principalmente no tratamento do diabetes (ALMEIDA *et al.*, 2006), sendo utilizadas em várias regiões dos continentes africano, asiático e das Américas Central e do Sul (da SILVA & CECHINEL-FILHO, 2002).

O gênero *Bauhinia* compreende cerca de 300 (trezentos) espécies das quais 64 (sessenta e quatro) são nativas do Brasil (VAZ & TOZZI, 2005). Diversas espécies foram introduzidas com fins ornamentais, adaptaram-se bem ao clima brasileiro e podem hoje ser encontradas em várias regiões do país, sendo conhecidas popularmente por pata-de-vaca devido ao formato bilobado de suas folhas que lembra o rastro da pata dos bovinos (LORENZI & MATOS, 2002).

Segundo da Silva & Cechinel-Filho (2002) devido ao grande interesse terapêutico das espécies do gênero *Bauhinia* essas são foco de vários estudos principalmente fitoquímicos e farmacológicos os quais têm permitido comprovar cientificamente as atividades biológicas lhes atribuídas. Apesar das diversas atividades biológicas apresentadas pelas espécies do gênero *Bauhinia* a atividade hipoglicemiante é a mais avaliada, devido ao emprego popular destas como hipoglicemiantes.

2.4.1 – Estudos farmacológicos

Oliveira *et al.* (2005) avaliando a atividade antidiabética do extrato alcoólico das folhas de *Bauhinia sacra* sobre aves (*Gallus domesticus*) com diabetes induzido pelo aloxano, uma droga diabetogênica, observaram que após um período de 30 (trinta) dias de tratamento as aves tratadas apresentaram redução de 133% (cento e trinta e três por cento) na glicemia, tornando-se esta menor que a apresentada pelo grupo de aves normais, tal fato foi atribuído ao aumento do número de ilhotas pancreáticas as quais são responsáveis pela produção de insulina, que provoca a diminuição do nível glicêmico.

A administração do extrato metanólico das folhas de *Bauhinia cheilandra* à ratos diabéticos induzido pelo aloxano causou uma redução de aproximadamente 55% (cinquenta e cinco por cento) no nível glicêmico, além de inibir o aumento da glicemia após a administração de solução de glicose (ALMEIDA *et al.*, 2006).

Menezes *et al.* (2007) avaliaram o potencial hipoglicemiante dos extratos aquosos das espécies *Bauhinia forficata* e *Bauhinia monandra* sobre ratos normoglicêmicos e observaram que o extrato de ambas as espécies apresentou atividade hipoglicemiante mesmo depois de 8 horas após sua administração.

A administração do decocto das folhas frescas de *Bauhinia forficata* por um período de 33 (trinta e três) dias à ratos diabéticos induzidos pela estreptozotocina não causou toxicidade à estes (PEPATO *et al.*, 2004).

A administração do decocto das folhas secas de *Bauhinia forficata* à ratas diabéticas prenhes não interferiu em seu nível glicêmico, porém diminuiu a ocorrência de malformações fetais e as taxas de ácido úrico (DAMASCENO *et al.*, 2004).

Fuentes, Arancibia-Avila & Alarcón (2004) administraram o extrato metanólico das folhas de *Bauhinia candicans* bem como as frações hexânica, butanólica e de acetato de etila deste à coelhos normais e diabéticos observando que o extrato metanólico e todas as frações testadas reduziram significativamente o nível glicêmico dos coelhos diabéticos, sendo a fração butanólica a mais ativa.

Pepato *et al.* (2002) avaliaram o potencial antidiabético do decocto das folhas de *Bauhinia forficata* sobre ratos diabéticos induzidos pela estreptozotocina, e observaram que o grupo tratado apresentou redução significativa nos níveis de glicose sanguínea e urinária.

Boonphong *et al.* (2007) avaliaram as atividades antimalárica, antimicobacteriana, antifúngica, antiinflamatória e citotóxica de 18 (dezoito) metabólitos isolados das raízes de *Bauhinia purpurea* onde observaram que 15 (quinze) destes apresentaram potencial antimicobacteriano, 4 (quatro) apresentaram atividade antimalárica, 5 (cinco) apresentaram atividade antifúngica, 2 (dois) exerceram potente ação inibitória da enzima ciclooxigenase-2 (COX-2) apresentando conseqüentemente atividade antiinflamatória, e 7 (sete) metabólitos apresentaram atividade citotóxica considerável.

Silva *et al.* (2002) avaliaram o efeito sub-agudo da administração da fração n-butanólica das folhas de *Bauhinia forficata* sobre ratos normoglicêmicos e diabéticos

induzidos pelo aloxano. A administração da fração nas doses 500 e 600 mg/kg provocou a redução dos níveis glicêmicos dos ratos normais. A maior redução foi observada no grupo dos ratos diabéticos quando a estes foi administrado a fração na dose de 800 mg/kg sendo a atividade hipoglicemiante mantida por 3 horas.

Volpato (2001) observou que a administração do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia forficata* à ratas diabéticas prenhes não reduziu os níveis glicêmicos, nem o ganho de peso e não afetou o desenvolvimento fetal, porém causou queda na ocorrência de anomalias esqueléticas e malformações viscerais.

Bauhinia kalbreyeri é bastante utilizada como hipoglicemiante na Colômbia, observou-se que o extrato aquoso das folhas desta espécie nas concentrações de 250, 500 e 1000 mg/kg não impediu o aumento da glicose sanguínea em ratos após a administração de solução de glicose, além de apresentar redução no nível glicêmico de ratos diabéticos apenas 5 (cinco) horas após sua administração (MURILO *et al.*, 2006).

Lino *et al.* (2004) avaliaram o potencial hipoglicemiante dos extratos aquoso, hexânico e etanólico das folhas de *Bauhinia forficata* e constataram que a administração desses extratos causou uma redução significativa na glicemia de ratos diabéticos, sendo o extrato aquoso na concentração de 400 mg/kg o mais ativo causando uma redução de 64% (sessenta e quatro por cento) redução maior que a apresentada pela glibenclamida, droga utilizada como padrão. A administração dos extratos também causou redução nos níveis de colesterol total.

A administração do flavonóide campferitrina isolado das folhas de *Bauhinia forficata* à ratos diabéticos nas doses 50, 100 e 200 mg/kg provocou a redução dos níveis glicêmicos destes, quando administrada à ratos normais observou-se que a atividade hipoglicemiante deste flavonóide é dose-dependente (SOUSA *et al.*, 2004).

Soares, Costa & Cecim (2000) realizaram um estudo no qual avaliaram a influência da administração do infuso das folhas de *Bauhinia candicans* sobre os níveis de colesterol e glicose sanguíneos de ratos diabéticos e concluíram que a administração do infuso não exerceu efeito sobre a hiperglicemia e hipercolesterolemia destes.

Pettit *et al.* (2006) avaliaram a atividade de metabólitos isolados das folhas, cascas e vagens de *Bauhinia purpurea* na inibição do desenvolvimento de células cancerígenas, e

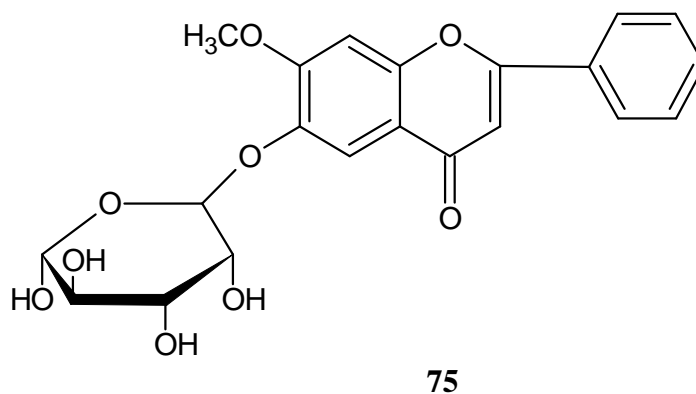
constatarem que de um total de cinco metabólitos isolados quatro causaram a inibição do desenvolvimento de tais células.

A mistura à 10% dos extratos etanólico bruto e de acetato de etila das folhas de *Bauhinia rufa* causou em um período de 24 horas 100% de mortalidade sobre as larvas do mosquito *Culex quinquefasciatus* (RIBEIRO-NETO *et al.*, 2007).

Kumar *et al.* (2005) avaliaram o potencial antimicrobiano do extrato metanólico do caule de *Bauhinia racemosa* e observaram que este apresentou potente atividade antimicrobiana, inibindo o crescimento de bactérias e fungos, como *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dentre outras.

2.4.2 – Estudos fitoquímicos

Das cascas de *Bauhinia purpurea* foi isolado o flavonóide 5,6-dihidróxi-7-metóxi-flavona-6-*O*-β-D-xilopiranosídeo (75) sendo inédito nesta espécie, a estrutura de tal composto foi proposta baseando-se em dados obtidos pelo emprego de técnicas de espectroscopias de IV, UV e RMN H¹ e C¹³, além da espectrometria de massa (YADAVA & TRIPATHI, 2000).



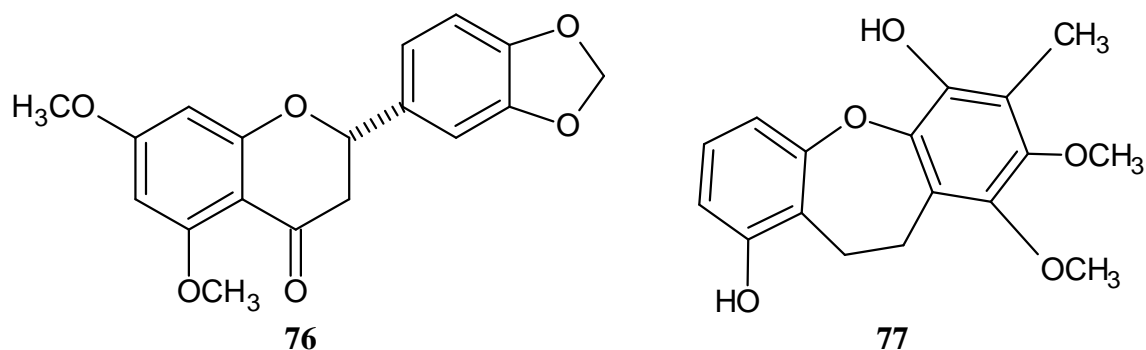
Fonte: Yadava & Tripathi, 2000.

FIGURA 49: Estrutura do 5,6-dihidróxi-7-metóxi-flavona-6-*O*-β-D-xilopiranosídeo.

Reddy *et al.* (2003) isolaram das raízes de *Bauhinia variegata* uma flavanona e uma dihidrodibenzoxepina ambas inéditas, além de mais três flavonóides já conhecidos. A flavanona e a dihidrodibenzoxepina foram identificadas como (2S) – 5,7-dimetóxi-3',4'-metilenodióxiflavanona e 5,6-dihidro-1,7-dihidróxi-3,4-dimetóxi-2-metildibenz[b,f]oxepina

respectivamente, dos três flavonóides isolados dois são derivados de canferol e um de quercetina.

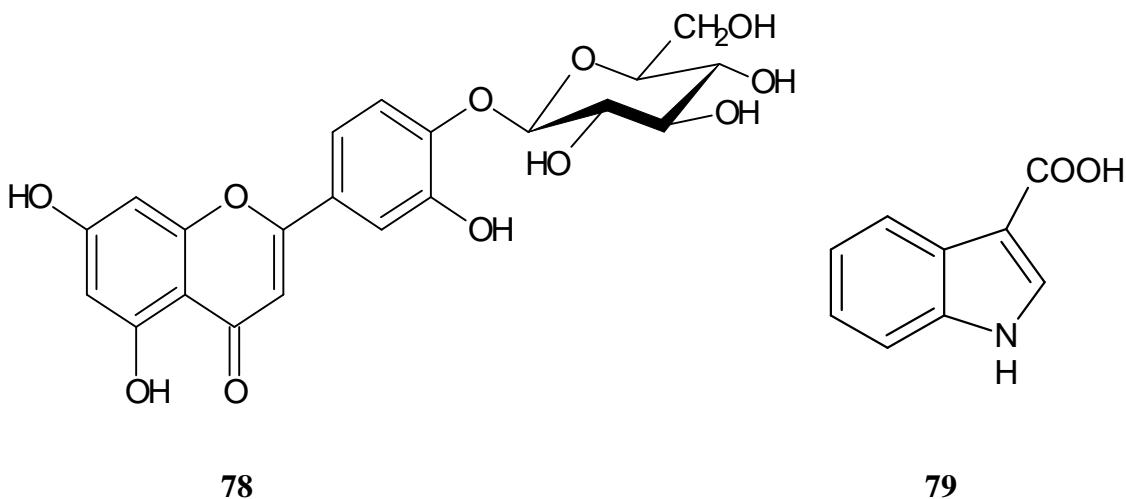
A figura 50 apresenta a estrutura dos dois metabólitos inéditos isolados.



Fonte: Reddy *et al.*, 2003.

FIGURA 50: Estrutura da flavanona e dihidrodibenzoxepina isoladas das raízes de *Bauhinia variegata*.

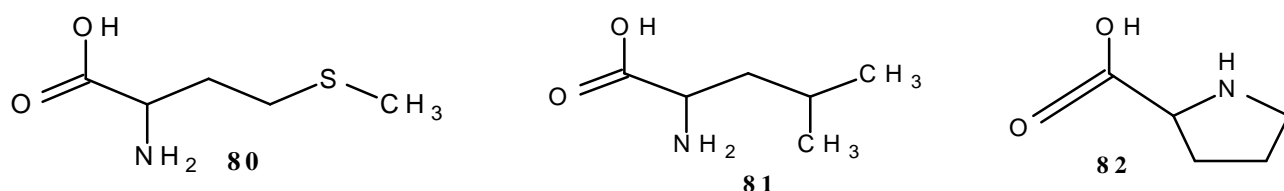
Bauhinia tarapotensis trata-se de uma espécie nativa do Equador a qual do extrato metanólico de suas folhas foram isolados sete metabólitos, sendo dois inéditos nesta espécie. Dentre os metabólitos isolados cita-se o flavonóide luteolina 4'-O-β-D-glucopiranosídeo (78) e o alcalóide ácido indol-3-carboxílico (79) (BRACA *et al.*, 2001).



Fonte: Braca *et al.*, 2001

FIGURA 51: Estrutura da luteolina 4'-O-β-D-glucopiranosídeo e do ácido indol-3-carboxílico.

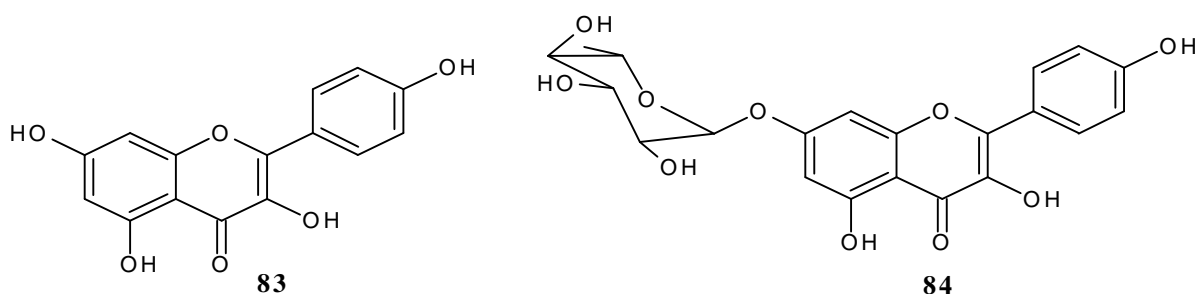
Sharanabasappa *et al.* (2007) realizaram um estudo fitoquímico com as folhas e sementes de *Bauhinia racemosa* e *Bauhinia purpurea* e verificaram a presença de proteínas flavonóides, glicosídeos, saponinas, taninos e óleos voláteis e a ausência de alcalóides. Em relação ao teor de flavonóides observou-se que os mesmos são mais abundantes nas sementes que nas folhas, sendo *Bauhinia purpurea* a espécie mais rica em tais compostos. *Bauhinia racemosa* apresentou maior quantidade de fenóis totais e maior quantidade de proteínas em suas folhas, *Bauhinia purpurea* apresentou maior quantidade de proteínas em suas sementes. Em *Bauhinia racemosa* foi detectada a presença dos aminoácidos fenilalanina (ver figura 3), metionina (80) e leucina (81), em *Bauhinia purpurea* observou-se a presença do aminoácido prolina (82). As sementes de *Bauhinia purpurea* apresentaram teor de óleo cerca de três vezes maior que o apresentado por *Bauhinia racemosa*.



Fonte: Sharanabasappa *et al.*, 2007.

FIGURA 52: Estrutura dos aminoácidos metionina, leucina e prolina.

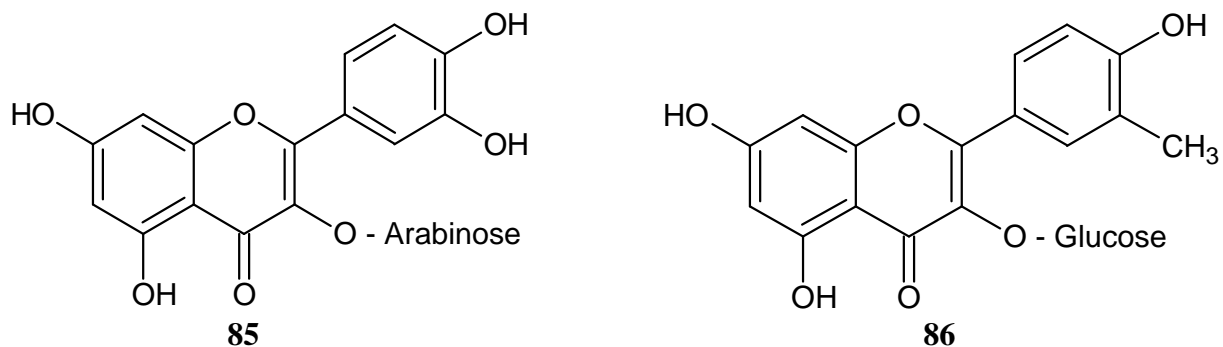
É comum o acúmulo de flavonóides livres e heterosídicos em espécies do gênero *Bauhinia* (MAIA-NETO *et al.*, 2008) o que foi comprovado por Pizzolatti *et al.* (2003) que isolaram das folhas de *Bauhinia forficata* além do canferol (83), três flavonóides glicosilados derivados deste e um derivado da quercetina. Das flores foi isolado um único flavonóide que foi identificado como 7-*O*- α -L-ramnopiranosilcanferol (84).



Fonte: Pizzolatti *et al.*, 2003.

FIGURA 53: Estrutura dos flavonóides canferol e 7-*O*- α -L-ramnopiranosilcanferol isolados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* respectivamente.

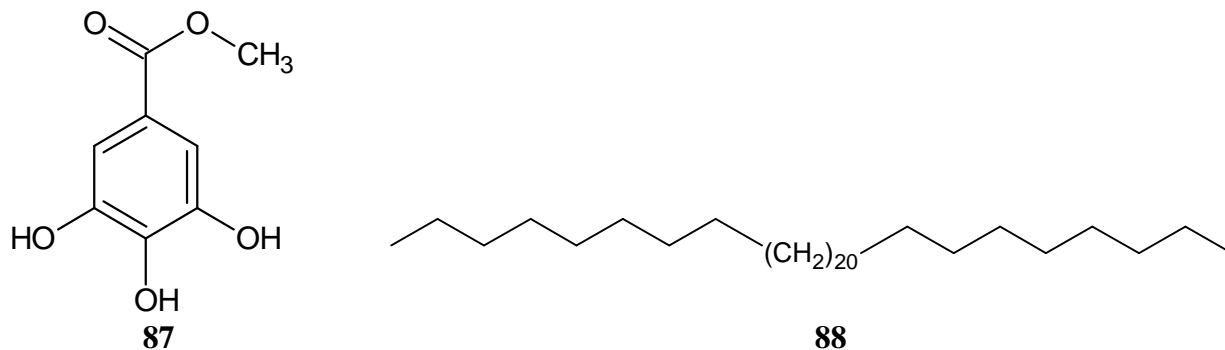
SALATINO *et al.* (1999) realizaram a análise de flavonóides das folhas de nove espécies do gênero *Bauhinia* encontrando heterosídeos derivados dos flavonóis canferol, quercetina, isoramnetina e miricetina, como a quercetina-3-arabinosídeo (85) e a isoramnetina-3-glucosídeo (86) isolados das folhas de *Bauhinia unguolata* e *Bauhinia pentandra* respectivamente.



Fonte: Salatino *et al.*, 1999.

FIGURA 54: Estrutura dos flavonóis quercetina-3-arabinosídeo e isoramnetina-3-glucosídeo isolados das folhas de *Bauhinia unguolata* e *Bauhinia pentandra* respectivamente.

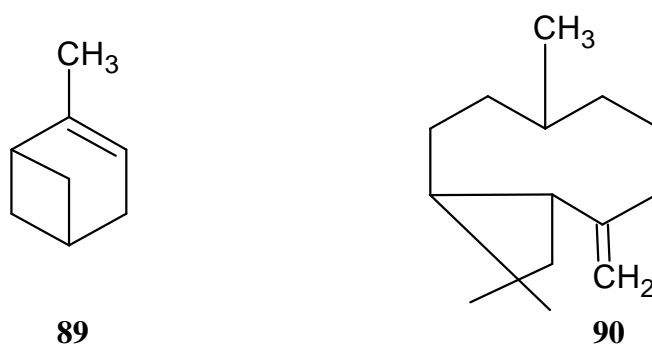
Das folhas de *Bauhinia microstachya* foram isolados e identificados três metabólitos: galato de metila (87), hexatriacontano (88) e a flavona vitexina (8), sendo os dois últimos isolados pela primeira vez nesta espécie (BIANCO & SANTOS, 2005).



Fonte: Bianco & Santos, 2005.

FIGURA 55: Estrutura do galato de metila e hexatriacontano.

Duarte-Almeida, Negri & Salatino (2004) avaliaram a presença e o teor de óleos voláteis nas folhas de nove espécies do gênero *Bauhinia* sendo sete destas pertencentes ao subgênero *Bauhinia* e as outras duas ao subgênero *Phanera*, e observaram que apenas as espécies pertencentes ao primeiro apresentaram óleos voláteis em suas folhas, sendo estes constituídos predominantemente por monoterpenos e sesquiterpenos dentre eles o α -pineno (89) e o β -cariofileno (90). *Bauhinia brevipes* e *Bauhinia rufa* foram as espécies que apresentaram maior teor de óleo volátil 0,25 e 0,30% respectivamente.



Fonte: Duarte-Almeida, Negri & Salatino, 2004.

FIGURA 56: Estrutura do monoterpeno α -pineno e do sesquiterpeno β -cariofileno.

A análise fitoquímica preliminar do extrato etanólico do caule de *Bauhinia macrostachya* revelou a presença de alcalóides, taninos, flavonóides e esteróides, sendo também isolada uma fração identificada como D-pinitol (MATOS, MATOS & MEDEIROS, 1986).

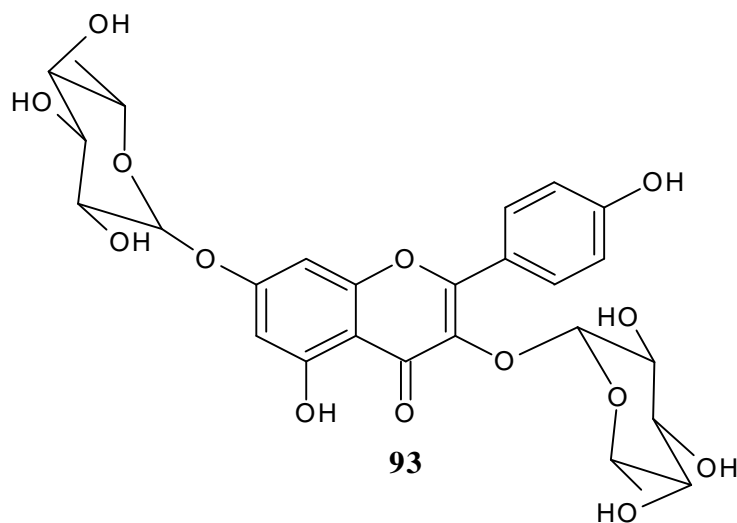
Apesar da rara ocorrência de alcalóides em espécies do gênero *Bauhinia* Maia-Neto *et al.* (2008) isolaram das folhas de *Bauhinia unguolata* os alcalóides harmano (91) e eleagnina (92) além dos flavonóides quercetina (27), quercitrina (26) e quercetina arabinosídeo.



Fonte: Maia-Neto *et al.*, 2008.

FIGURA 57: Estrutura dos alcalóides harmano e eleagnina.

Como o teor e a composição dos metabólitos secundários podem ser influenciados por fatores ambientais (GOBBO-NETO & LOPES, 2007), Pinheiro *et al.* (2006) avaliaram a influência da sazonalidade sobre o flavonóide campferitrina (93) nos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Bauhinia forficata* coletadas em duas diferentes regiões de Santa Catarina, e puderam observar que houve diferenças significativas no teor de campferitrina entre as duas regiões, observaram também que o teor de flavonóides do extrato hidroalcoólico é cerca de três vezes maior que o apresentado pelo extrato aquoso, ambos apresentaram flavonóides heterosídicos de canferol e quercetina.

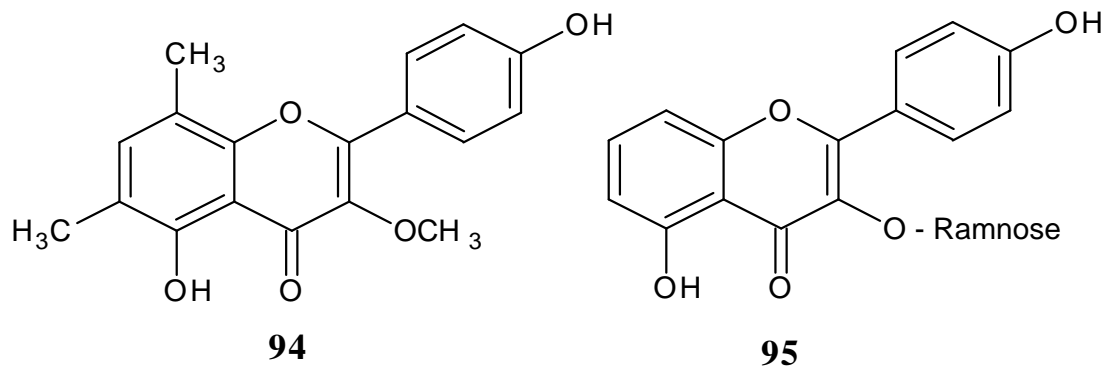


Fonte: Pinheiro *et al.*, 2006.

FIGURA 58: Estrutura da campferitrina.

Silva *et al.* (2007a) analisaram o teor de fenóis e flavonóides totais nos extratos de diferentes partes de 15 (quinze) espécies vegetais da região amazônica, dentre elas as espécies *Bauhinia forficata* e *Bauhinia macrostachya* onde observaram que entre as duas espécies analisadas a casca de *B. macrostachya* apresentou o maior teor de fenóis e flavonóides totais. Não sendo detectado a presença de flavonóides na casca de *B. forficata*.

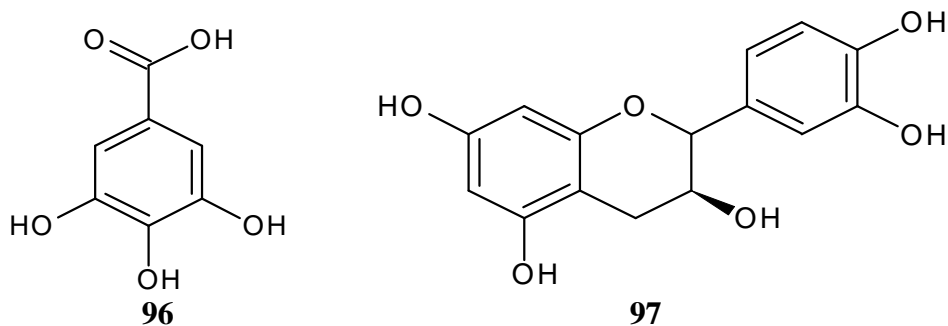
Bauhinia malabarica é uma espécie bastante utilizada na medicina popular tailandesa, do extrato metanólico de suas folhas foram isolados sete flavonóis dos quais cinco inéditos nesta espécie. Os flavonóis isolados apresentaram-se tanto sob a forma livre como as agliconas 6,8-di-*C*-metilcanferol-3-metil éter (94), canferol e quercetina, quanto sob a forma heterosídica como a afzelina (95) (ramnosídeo de canferol), a isoquercitrina, quercitrina e hiperosídeo (KAEWAMATAWONG *et al.*, 2008).



Fonte: Kaewamatawong *et al.*, 2008.

FIGURA 59: Estrutura dos flavonóis 6,8-di-*C*-metilcanferol-3-metil éter e afzelina.

Da Silva *et al.* (2007) avaliaram o teor de compostos fenólicos nos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Bauhinia microstachya* e verificaram que o segundo apresentou teor 27,3% maior que o primeiro, os extratos mostraram perfil cromatográfico diferente quando analisados por CLAE, que revelou também que o extrato aquoso apresentou maior variedade de substâncias que o extrato hidroalcoólico, sendo estas de maior caráter polar. Ambos extratos mostraram como componente majoritário um composto com tempo de retenção idêntico ao do ácido gálico (96), além da presença de catequina (97).



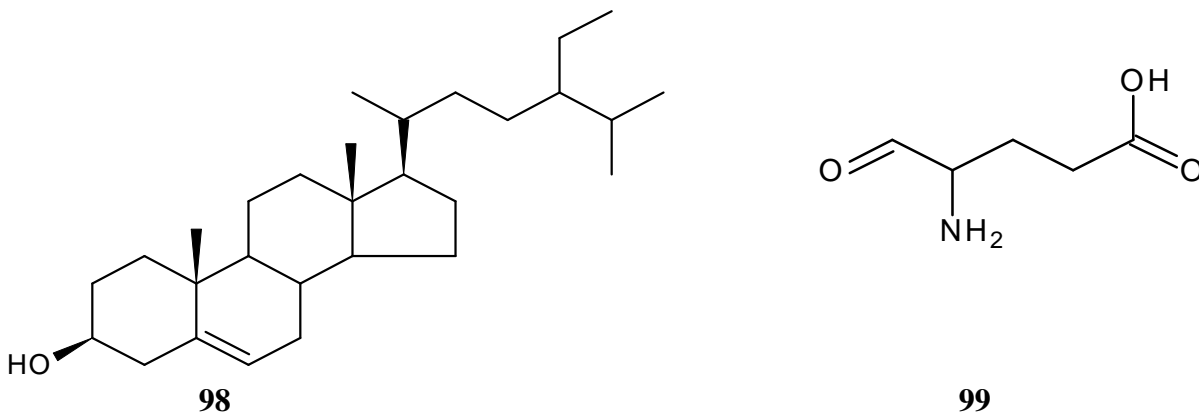
Fonte: da Silva *et al.*, 2007.

FIGURA 60: Estrutura do ácido gálico e da catequina.

Menezes *et al.* (2007) isolaram do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia forficata* os flavonóides campferitrina e 3,7-di-*O*- α -ramnopiranosilquercetina, sendo este último também isolado do extrato aquoso das folhas de *Bauhinia monandra*.

Paula *et al.* (2002) analisaram a presença de metabólitos secundários em folhas jovens de *Bauhinia forficata* e detectaram a presença de dois flavonóides glicosilados derivados do canferol um diglicosídeo e o outro triglicosídeo, observaram a ausência de taninos e alcalóides, o que pode ser justificado pelo acúmulo preferencial destes em vegetais em fase avançada de desenvolvimento.

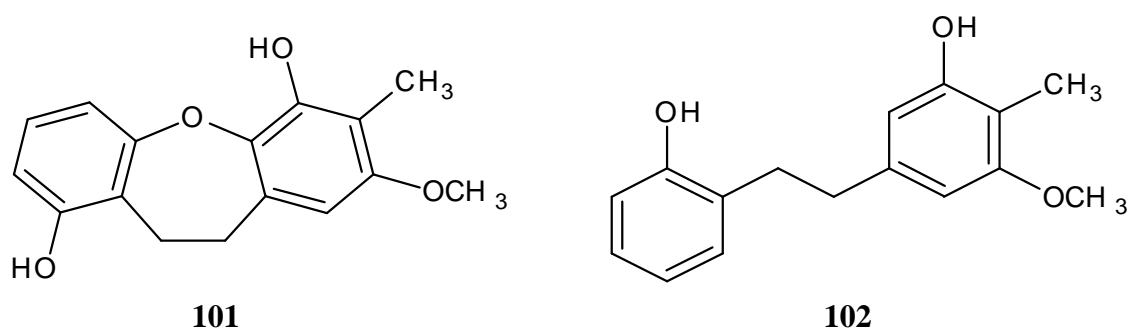
Bauhinia variegata é uma espécie bastante empregada nas culturas popular e indígena da Índia, de suas cascas foram isoladas a saponina lupeol (62) e o fitoesterol estigmasterol (98) além dos aminoácidos ácidos glutâmico (99) e aspártico (MALI *et al.*, 2007).



Fonte: Mali *et al.*, 2007.

FIGURA 61: Estrutura do estigmasterol e do ácido glutâmico.

Das raízes de *Bauhinia purpurea* foram isolados 18 (dezoito) metabólitos secundários sendo onze destes inéditos nesta espécie, dentre eles o 5,6-dihidro-1,7-dihidróxi-3-metóxi-2-metildibenz[*b,f*]oxepina denominada vulgarmente bauhinoxepina (100) e o 5-[2-(2-hidróxifenil)etil]-3-metóxi-2-metilfenol denominado bauhinol E (101). Foram isoladas duas flavanonas, seis bibenzils, oito dihidrodibenzoxepinas, um dihidrobenzofurano e um espirocromano (BOONPHONG *et al.*, 2007).

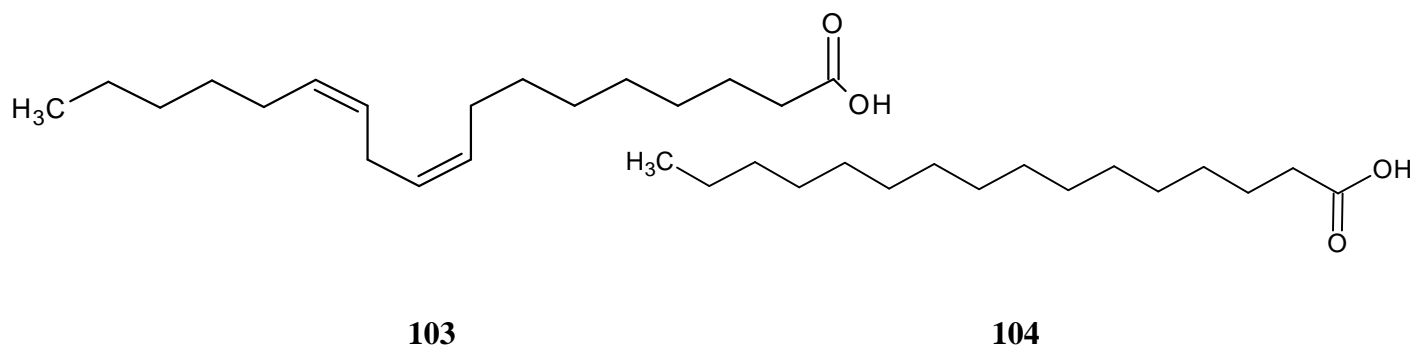


Fonte: Boonphong *et al.*, 2007.

FIGURA 62: Estrutura da bauhinoxepina e do bauhinol E.

Ramadan *et al.* (2006) realizaram a caracterização química do óleo das sementes de *Bauhinia purpurea* e observaram que este é constituído predominantemente por lipídios pertencentes à diferentes classes dentre elas esteróis, glicolipídios, gliceróis e ácidos graxos. A espécie apresentou abundância em ácidos graxos, sendo o ácido linoléico (103) predominante, foi detectado a presença do composto tocoferol ao qual é atribuída atividade antioxidante.

Pinto *et al.* (2005) realizaram a caracterização química e bioquímica das sementes de *Bauhinia variegata* e verificaram que estas apresentam alto valor protéico e energético, dentre os ácidos graxos detectados prevaleceram os ácidos linoléico (103) e palmítico (104). A proteína predominante é a globulina que apresentou uma potente atividade hemaglutinante.

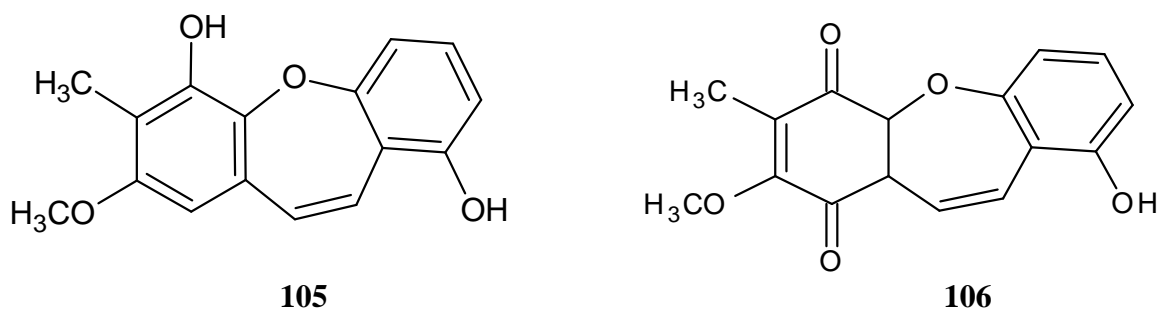


Fonte: Pinto *et al.*, 2005.

FIGURA 63: Estrutura dos ácidos linoléico e palmítico.

Silva *et al.* (2007b) isolaram uma lectina (glicoproteína) das sementes de *Bauhinia variegata* e determinaram sua seqüência de aminoácidos, observando a prevalência de serina, glicina, treonina, ácido aspártico e ácido glutâmico. A lectina isolada não exerceu atividade hemaglutinante sobre eritrócitos humanos. A lectina apresentou elevada massa molecular, 32.838 Da.

A ocorrência de derivados de oxepinas é rara na natureza, porém um estudo fitoquímico com as folhas, cascas e vagens de *Bauhinia purpurea* levou ao isolamento de cinco dibenz[*b,f*]oxepinas, sendo quatro delas inéditas nesta espécie. Os metabólitos isolados são conhecidos por pacharina (105) e bauhiniastatina 1 (106), 2, 3 e 4 (PETTIT *et al.*, 2006).



Fonte: Pettit *et al.*, 2006.

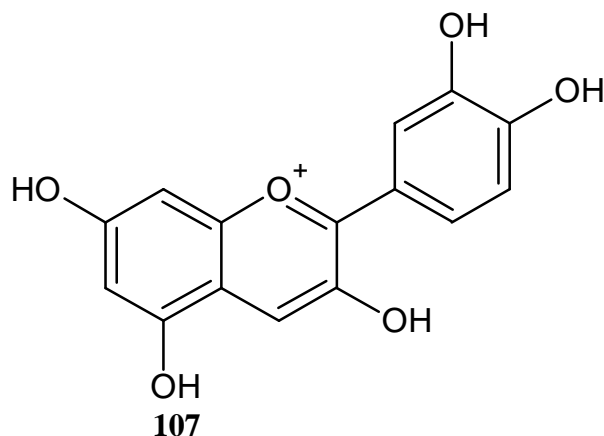
FIGURA 64: Estrutura da pacharina e da bauhiniastatina 1.

As espécies do gênero *Bauhinia* muitas vezes apresentam atividade hipoglicemiante, mas quase sempre seu mecanismo de ação não são determinados,

Azevedo *et al.* (2006) isolaram insulina das folhas de *Bauhinia variegata* e observaram que esta apresenta massa molecular similar à da insulina bovina, e que exerceu potente atividade hipoglicemiante. A insulina foi localizada nos cloroplastos, onde também foram encontrados cristais de oxalato de cálcio. A presença de insulina em vegetais por si só já é um indício de uma possível atividade hipoglicemiante.

Bauhinia forficata é uma espécie bastante comercializada, Engel *et al.* (2008) realizaram um estudo de controle de qualidade de amostras comerciais de *Bauhinia forficata* e observaram alto índice de reprovação, num total de seis amostras analisadas verificou-se que apenas duas são realmente a espécie indicada, dentre as irregularidades apresentadas pelas amostras destaca-se a presença de material estranho bem como ausência do princípio ativo campferitrina (93).

Guimarães-Beelen *et al.* (2006) avaliaram o teor de taninos das folhas de *Bauhinia cheilantha* em três fases de seu ciclo fenológico, observando que tal espécie demonstrou baixo rendimento (7%) de taninos purificados, apresentando maior concentração de taninos no período da floração, porém o período de frutificação apresentou menor caráter adstringente devido à redução no teor de delfinidina (107).



Fonte: Guimarães-Beelen *et al.*, 2006.

FIGURA 65: Estrutura do antociano delfinidina.

Mendes, Machado e Falkenberg (2006) realizaram uma triagem de glicolípídios em oito espécies vegetais de uso medicinal dentre elas *Bauhinia forficata*, observando nesta a presença dos lipídios mono, di, tri e tetra galactosildiácilglicerol.

A análise fitoquímica das folhas de *Bauhinia kalbreyeri* revelou abundância em flavonóides, lactonas triterpênicas e alcalóides. Quinonas, taninos e cumarinas foram

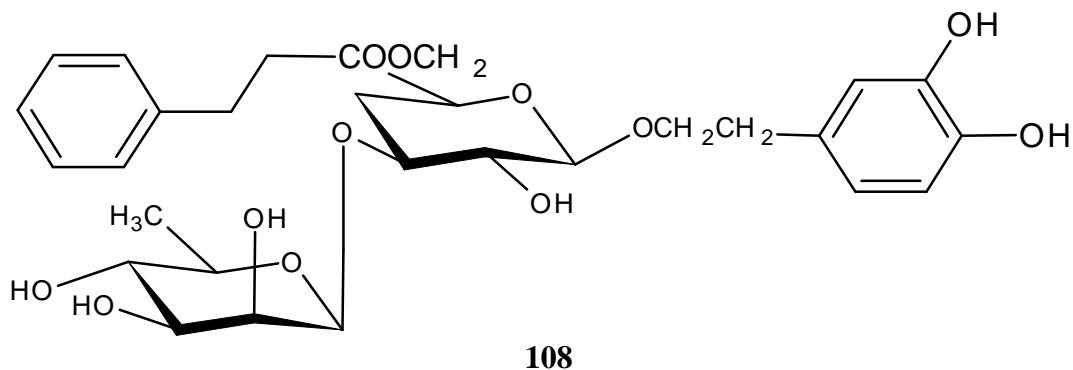
detectadas em pequenas concentrações, não foi detectado a presença de saponinas (MURILO *et al.*, 2006).

2.4.3 - Estudos avaliando o potencial antioxidante

Espécies reativas de oxigênio são radicais livres gerados como produtos do metabolismo normal dos organismos aeróbicos, devido à presença de um ou mais elétrons desemparelhados, são espécies altamente reativas que danificam as células e estão diretamente ligados ao surgimento de diversas doenças dentre elas câncer e diabetes (da SILVA, 2007) o próprio organismo possui enzimas que atuam na redução destes radicais, porém quando estes são produzidos excessivamente é gerado um estresse oxidativo que atinge diretamente as células causando inclusive a ruptura de sua membrana (DAMASCENO *et al.*, 2002).

Segundo de Souza *et al.* (2004) cerca de 200 doenças diferentes são relacionadas à produção e acúmulo excessivo de radicais livres. À alguns compostos polifenólicos têm sido atribuído atividade antioxidante em especial os flavonóides, como muitas espécies vegetais produzem tais compostos estas têm despertado grande interesse científico sendo frequente os estudos que avaliam o potencial antioxidante de espécies vegetais.

Braca *et al.* (2001) avaliaram o potencial antioxidante das frações, do extrato metanólico e de sete compostos isolados das folhas de *Bauhinia tarapotensis*, observando que o extrato metanólico e outras três frações testadas apresentaram potente atividade antioxidante, porém menor que a apresentada pelo composto isoacteosídeo (108) o mais ativo de todos.



Fonte: Braca *et al.*, 2001.

FIGURA 66: Estrutura do isoacteosídeo.

Kumar *et al.* (2005) avaliaram o potencial antioxidante do extrato metanólico das folhas de *Bauhinia racemosa* utilizando diferentes metodologias e puderam observar que em todas elas tal extrato apresentou potente atividade antioxidante, a qual foi associada à alta abundância de compostos fenólicos. A atividade antioxidante mostrou-se dose-dependente, sendo tanto maior quanto maior a concentração do extrato.

Murilo *et al.* (2006) avaliaram o potencial antioxidante dos extratos aquoso e etanólico das folhas e cascas de *Bauhinia kalbreyeri*, observando que o primeiro apresentou atividade máxima na concentração de 60 µg/ml enquanto a atividade máxima do segundo foi observada na dose de 40 µg/ml. O extrato etanólico das cascas mostrou-se mais ativo que o das folhas.

Os extratos de diferentes partes de 15 espécies vegetais da região Amazônica foram testados quanto à sua possível atividade antioxidante, dentre estes destaca-se os extratos das cascas, folhas e raízes de *Bauhinia macrostachya* e *Bauhinia forficata*, foram empregadas diferentes metodologias. Ambas as espécies apresentaram atividade antioxidante porém a atividade de *Bauhinia macrostachya* foi mais pronunciada, o potencial antioxidante das duas espécies pode ser atribuído ao alto teor de compostos fenólicos apresentados por estas. Das quinze espécies testadas onze dentre elas *Bauhinia macrostachya* mostraram-se interessantes fontes de compostos antioxidantes (SILVA *et al.*, 2007a).

Da Silva *et al.* (2007) avaliaram a atividade antioxidante dos extratos aquoso e hidroalcoólico das folhas de *Bauhinia microstachya* empregando diferentes metodologias e puderam observar que em todos os testes realizados o extrato hidroalcoólico mostrou-se mais ativo que o extrato aquoso, o que foi atribuído ao maior teor de compostos fenólicos apresentado por este.

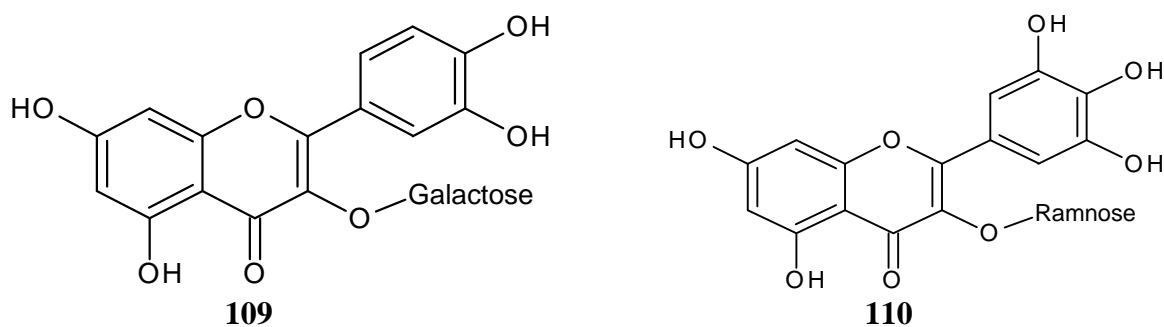
Os extratos etanólico de partes aéreas das espécies *Bauhinia forficata*, *B. variegata* e *B. candida* exibiram atividade antioxidante sobre o radical DPPH (1,1-diphenil-2-picrylhydrazil) sendo que para o primeiro e o segundo foi observada atividade antioxidante maior que o extrato de *Ginkgo biloba*, utilizado como padrão. Porém no teste da ação protetora sobre *Saccharomyces cerevisiae* tais extratos mostraram-se inativos. Às espécies do gênero *Bauhinia* comumente apresentam flavonóides os quais são derivados da via do chiquimato, aos metabólitos desta via é associada atividade antioxidante, no entanto metabólitos derivados da via do acetato atuam na proteção das células de *S. cerevisiae*, o

fato dos extratos de *Bauhinia* apresentarem atividade antioxidante sobre o DPPH e serem inativas na proteção de *S. cerevisiae* pode ser atribuído à predominância de compostos derivados da via do chiquimato em tais espécies (da SILVA *et al.*, 2005).

ARGOLO *et al.* (2004) avaliaram o potencial antioxidante dos extratos aquoso, etanólico, clorofórmico, hexânico e de acetato de etila das folhas de *Bauhinia monandra* sobre o radical DPPH e observaram que destes apenas o extrato hexânico não apresentou atividade antioxidante, no entanto o extrato clorofórmico foi o mais ativo de todos o que pode ser atribuído à dois compostos presentes neste extrato um com $R_f = 0,40$ e outro com $R_f = 0,88$.

2.5 – Estudos com *Bauhinia longifolia*

Salatino *et al.* (1999) analisaram a ocorrência de flavonóides nas folhas de *Bauhinia longifolia*, observando a presença de heterosídeos derivados de canferol, quercetina e miricetina, sendo estes últimos raramente encontrados em espécies do gênero *Bauhinia*. Dentre os compostos identificados encontra-se um arabinosídeo do canferol, um galactosídeo de quercetina (109) e um ramnosídeo de miricetina (110).



Fonte: Salatino *et al.*, 1999.

FIGURA 67: Estrutura do galactosídeo de quercetina e ramnosídeo de miricetina isolados das folhas de *Bauhinia longifolia*.

Duarte-Almeida *et al.* (2004) realizaram um estudo avaliando a ocorrência de óleo volátil nas folhas de *Bauhinia longifolia* e constataram que o óleo volátil encontrado é constituído de sesquiterpenos, sendo o espatulenol o composto majoritário seguido pelo β -cariofileno (90), e em menor quantidade germacreno D, biciclogermacreno, aromadendreno, isoespatulenol e γ -cadineno.

3- METODOLOGIA

3.1 - Identificação botânica e herborização da espécie estudada

Realizou-se no mês de agosto de 2007 a coleta de amostras da espécie vegetal estudada, todas estas apresentando estruturas reprodutivas como flores e frutos. Após a coleta realizou-se o preparo das exsiccatas, que foram obtidas pela prensagem em madeira das amostras coletadas, envolvidas em folhas de jornal e secas em estufa à 35°C durante o período de uma semana. As exsiccatas foram enviadas ao Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), onde foram identificadas como tratando-se da espécie *Bauhinia longifolia* (Bong.) Steudel, uma exsicata foi adicionada ao herbário da instituição sendo registrada por BHCB 18778.

3.2 – Coleta das Folhas de *Bauhinia longifolia*

Realizou-se no mês de julho de 2008, no período da manhã, a coleta das folhas da espécie vegetal previamente identificada como *Bauhinia longifolia*, a coleta foi realizada em uma área do cerrado de propriedade particular na cidade de Luz-MG. Foram coletadas folhas inteiras, sadias e de tamanho variável.

3.3 – Secagem e processamento das folhas de *Bauhinia longifolia*

Após a coleta das folhas de *Bauhinia longifolia* foi realizado o processo de secagem das mesmas, à sombra e à temperatura ambiente por um período de três dias. Terminado o processo de secagem realizou-se o processamento das folhas secas, sendo este realizado em processador de alimentos.

3.4 – Processo de extração

O processo de extração foi realizado pela maceração à temperatura ambiente das folhas secas e processadas de *Bauhinia longifolia* em álcool etílico P.A. (Tedia[®]), pelo período de vinte e quatro horas.

3.5 – Concentração à pressão reduzida do extrato etanólico das folhas (EEF) de *Bauhinia longifolia*

O extrato obtido pela maceração das folhas de *Bauhinia longifolia* foi concentrado à pressão reduzida em aparelho rotaevaporador, à 45°C.

3.6 – Cromatografia em coluna

Em uma coluna de vidro realizou-se o processo de separação cromatográfica do EEF (25,9963 g) de *Bauhinia longifolia*, utilizando-se sílica gel 60 PF₂₅₄ (Merck[®]) de 70-230 mesh como fase estacionária, e hexano (HEX), metanol (MeOH) e acetato de etila (AcOEt) todos de grau analítico pertencentes à marca Quimex, e diclorometano (DCM) P.A. (Synth[®]) como eluentes. A eluição foi realizada com a mistura de solventes em ordem crescente de polaridade empregando-se 100 ml dos seguintes sistemas à diferentes proporções (v/v) : HEX, HEX/DCM, DCM, DCM-AcOEt, AcOEt e MeOH. As frações foram coletadas em vials com capacidade para 40 ml cada.

3.7 – Cromatografia em camada delgada

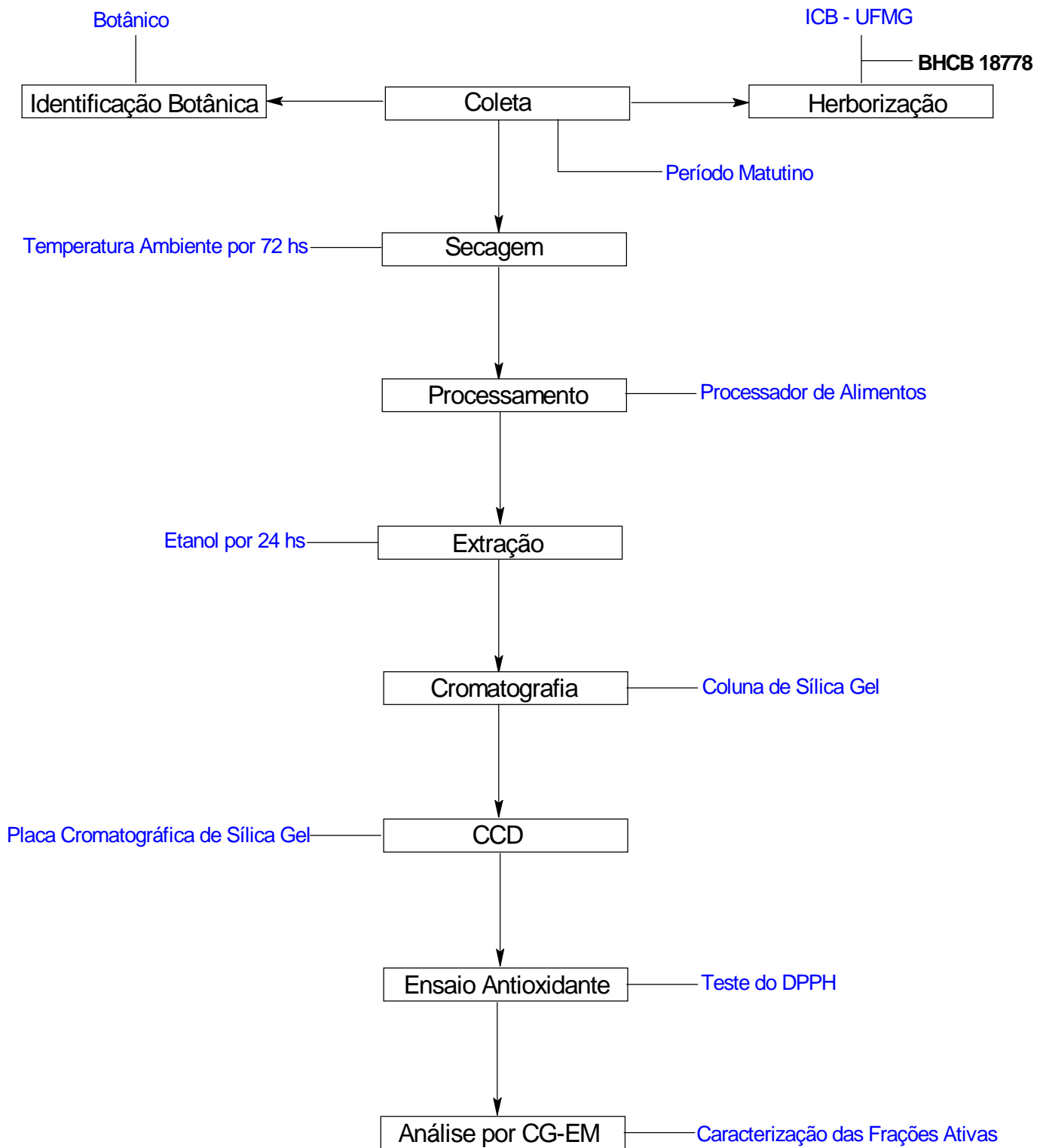
A cromatografia em camada delgada (CCD) foi realizada através da eluição em placa cromatográfica de Sílica Gel 60 PF₂₅₄ 70-230 mesh (Merck[®]) das frações obtidas por cromatografia em coluna do EEF de *Bauhinia longifolia* utilizando como fase móvel HEX/DCM 1:1 e DCM/AcOEt 1:1. A revelação das placas foi realizada utilizando-se solução de Sulfato Cérico (CeSO₄ 0,1 %) e expondo-se as placas à radiação UV. Após a eluição, as amostras com perfis cromatográficos semelhantes foram reunidas.

3.8 – Avaliação do potencial antioxidante das frações e EEF das folhas de *Bauhinia longifolia*

A análise preliminar da atividade antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* foi realizada com base no método do DPPH que é um radical livre estável à temperatura ambiente apresentando coloração violeta. Quando este radical entra em contato com uma substância capaz de reduzi-lo, a coloração é alterada de violeta para amarelo. Desta forma cada amostra foi solubilizada em placa de toque, sendo considerado como controle a amostra solubilizada e reação a mistura da amostra com três gotas de solução etanólica de DPPH. Após a solubilização (no caso do controle) e a mistura da amostra com a solução de DPPH (no caso da reação) deixou-se a reação ocorrer à temperatura ambiente, observando-se em seguida a coloração.

3.9 – Análise por Cromatografia em fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massa (CG-EM)

As frações que apresentaram atividade antioxidante foram analisadas por CG-EM para tanto empregou-se um cromatógrafo à gás de alta resolução HP 6890 (Hewlett Packard) com coluna capilar HP-1 (1% fenil metil siloxano), apresentando 0,25 mm de diâmetro interno, 30 m de comprimento, com espessura de fase de 0,25 μm , empregando-se o hélio como gás de arraste com pressão constante de 8 psi, sendo a temperatura do injetor 240 °C. O modelo do espectrômetro de massa utilizado foi o *Agilent 5973 Network Mass Selective Detector* com sistema de injeção sem divisão de fluxo (*splitless*), com 30 s de tempo de válvula fechada. O espectro foi obtido por impacto de elétrons (70eV), a uma temperatura de 230 °C, utilizou-se a biblioteca eletrônica Wiley 275 para comparação dos espectros obtidos.



Fonte: Dados da autora, 2008.

FIGURA 68: Fluxograma da metodologia empregada

4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 – Aspectos botânicos

Ao longo da realização do presente estudo pôde-se perceber que são escassas as informações sobre os aspectos botânicos de *Bauhinia longifolia*. Através da observação dos caracteres botânicos da espécie estudada foi possível observar que *Bauhinia longifolia* trata-se de uma angiosperma tipo leguminosa, possuindo frutos do tipo vagem, folhas com formato bilobado (Figura 69), apresentando geralmente nove nervuras que partem da base da folha até sua parte superior.

Devido à semelhança entre o formato de suas folhas e o formato da pata de bovinos, *Bauhinia longifolia* é conhecida popularmente como pata-de-vaca sendo empregada na região principalmente no tratamento do diabetes.



Fonte: Autora, 2007.

FIGURA 69: Folha de *Bauhinia longifolia*.

As flores de *Bauhinia longifolia* são brancas e apresentam grande quantidade de néctar. Conforme Raven *et al.* (2001) espécies que apresentam flores com coloração pouca vistosa, grande produção de néctar e odor forte são geralmente polinizadas por morcegos, tais características foram observadas em *Bauhinia longifolia*, somado à grande ocorrência de morcegos na área onde foi realizada a coleta sugere-se que *Bauhinia longifolia* apresente polinização quiropterófila.

A figura 70 mostra um espécime de *Bauhinia longifolia* em fase de floração, tal fotografia foi tirada no mês de novembro do ano de 2007 sugerindo que a floração de *Bauhinia longifolia* ocorra na primavera.



Fonte: Autora, 2007.

FIGURA 70: *Bauhinia longifolia* em fase de floração.

4.2 – Processo de extração e fracionamento cromatográfico

O processo de extração das folhas secas de *Bauhinia longifolia* em etanol levou à obtenção de 61,8638 gramas de extrato bruto (Tabela 2) um baixo rendimento era esperado visto que segundo dos Santos (2007) os metabólitos secundários ocorrem em pequenas quantidades nos vegetais.

TABELA 2: Rendimento dos processos de extração e fracionamento cromatográfico.

Processo	Massa Inicial (g)	Massa Final (g)	Rendimento (%)
Extração	1148,7000	61,8638	5,38
Cromatografia	21,0927	2,7922	13,24

Fonte: Dados da autora, 2008.

O fracionamento cromatográfico do extrato bruto em coluna de sílica gel forneceu um total de 64 frações (Tabela 3) resultando em uma massa total de 2,7922 gramas. Como a eluição da coluna foi realizada com solventes em escala crescente de polaridade o baixo rendimento das primeiras 17 frações pode ser atribuído à baixa concentração de compostos de caráter altamente apolar, pois de acordo com Falkenberg, dos Santos & Simões (2007) o etanol extrai preferencialmente metabólitos sob a forma de heterosídeos (ver figura 39), os quais são geralmente polares, apresentando conseqüentemente pouca solubilidade em solventes apolares.

O maior rendimento foi observado para as frações 42 à 49 juntamente com a fração 64, por terem sido obtidas pela eluição com solventes mais polares, possivelmente são constituídas por metabólitos com caráter polar, tais como os heterosídeos.

TABELA 3 : Massa e rendimento das frações obtidas pelo fracionamento cromatográfico do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia*.

Fração	Massa (mg)	Rendimento (%)	Fração	Massa (mg)	Rendimento (%)
1	2,40	0,08	33	29,1	1,04
2	0,50	0,02	34	31,5	1,13
3	0,80	0,03	35	27,3	0,98
4	0,80	0,03	36	28,5	1,02
5	0,60	0,02	37	30,7	1,10
6	3,90	0,14	38	27,7	0,99
7	6,80	0,24	39	21,1	0,75
8	4,00	0,14	40	21,3	0,76
9	3,20	0,11	41	45,1	1,62
10	2,30	0,08	42	284,8	10,2
11	11,5	0,41	43	246,2	8,82
12	14,2	0,51	44	239,3	8,57
13	16,5	0,59	45	108,0	3,87
14	16,6	0,59	46	83,8	3,00
15	17,2	0,62	47	95,5	3,42
16	15,6	0,56	48	86,5	3,10
17	13,7	0,49	49	140,6	5,04
18	19,0	0,68	50	60,4	2,16
19	25,7	0,92	51	34,7	1,24
20	25,7	0,92	52	34,4	1,23
21	21,9	0,78	53	32,1	1,15
22	29,7	1,06	54	31,6	1,13
23	26,8	0,96	55	33,5	1,20
24	22,9	0,82	56	36,9	1,32
25	21,1	0,76	57	33,3	1,19
26	17,2	0,62	58	23,2	0,83
27	31,7	1,14	59	32,0	1,15
28	37,3	1,34	60	57,1	2,04
29	47,4	1,70	61	55,3	1,98
30	39,2	1,40	62	66,8	2,39
31	34,8	1,25	63	53,7	1,92
32	30,8	1,10	64	98,4	3,52

Fonte: Dados da autora, 2008.

As frações cromatográficas foram monitoradas por CCD e agrupadas de acordo com seu perfil cromatográfico, fornecendo um total de 14 frações (Figura 71), das quais quatro apresentaram fluorescência sob luz ultravioleta que segundo Zuanazzi & Montanha (2007) é característico de flavonóides.



Fonte: Autora, 2008.

FIGURA 71: Frações cromatográficas obtidas pelo agrupamento de acordo com o perfil cromatográfico por CCD.

4.3 – Avaliação qualitativa da atividade antioxidante

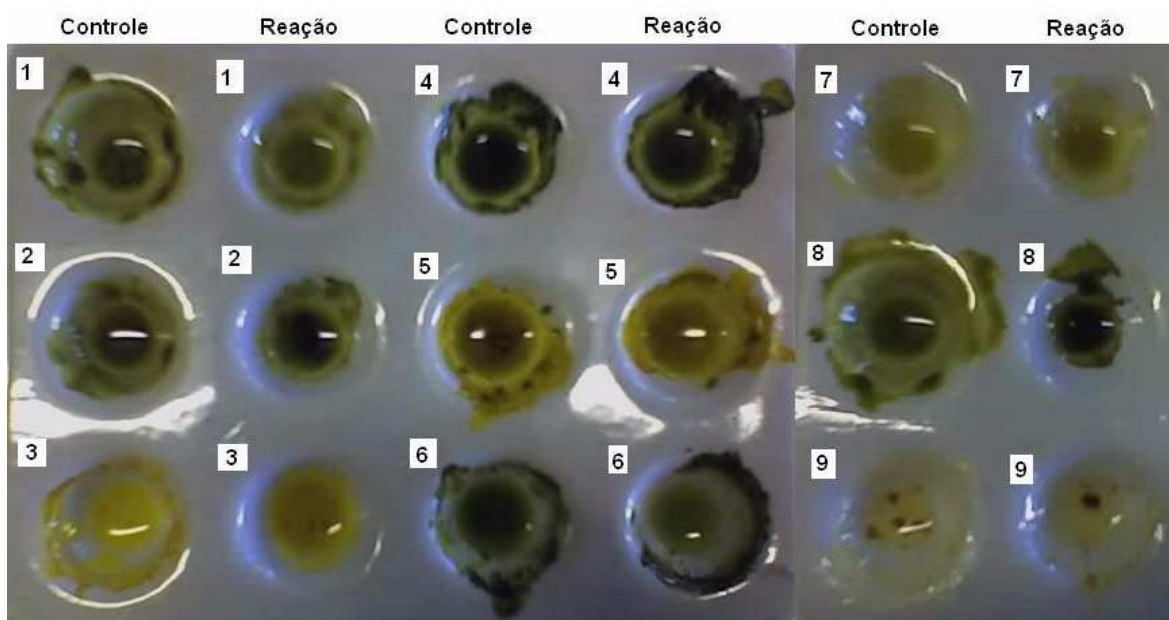
Segundo da Silva (2007) espécies antioxidantes atuam provocando a redução do DPPH através da doação de hidrogênio formando o DPPH-H, sua forma reduzida, tal redução é acompanhada por uma mudança na coloração da solução etanólica deste radical que passa de violeta à amarelo, essas espécies podem agir também pela captura de tais radicais.

Apesar de terem sido obtidas 14 frações cromatográficas e o extrato bruto das folhas de *Bauhinia longifolia*, 19 (dezenove) amostras foram analisadas sendo três destas o extrato bruto e duas frações repetidas. A análise preliminar da atividade antioxidante de tais amostras revelou que oito destas demonstraram uma provável atividade antioxidante,

conforme observado a mudança de coloração de violeta para amarelo apresentada pela mistura de cada uma dessas amostras com a solução de DPPH.

As amostras de número 5 e 6 após a mistura com a solução de DPPH apresentaram coloração amarelo claro, enquanto as amostras 3, 7 e 9 devido ao fato de apresentarem coloração amarela mesmo antes de serem misturadas com a solução de DPPH tornou a análise complexa, sendo difícil concluir se tais amostras apresentam realmente atividade antioxidante.

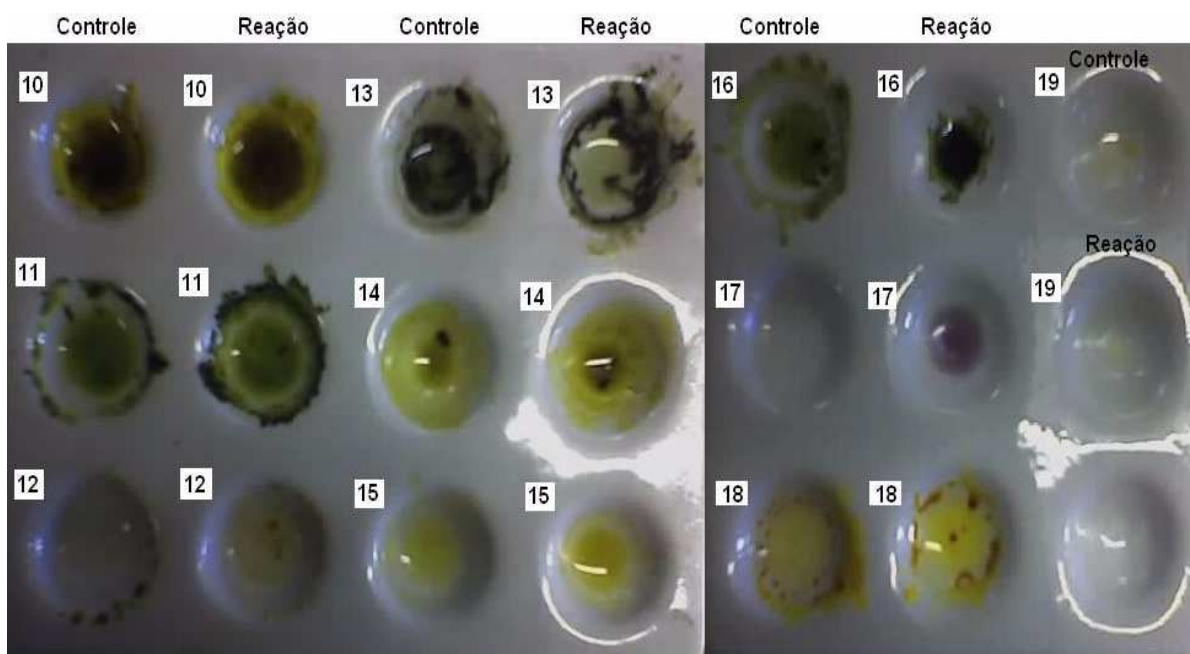
A figura 72 mostra o resultado da análise qualitativa da atividade antioxidante das primeiras nove amostras, onde controle refere-se à amostra solubilizada e reação à mistura entre a amostra e a solução de DPPH.



Fonte: Carmelita Gomes da Silva, 2008.

FIGURA 72: Análise qualitativa da atividade antioxidante das amostras de 1 à 9.

Conforme pode ser observado na figura 73 as amostras 14, 15 e 18 apresentaram coloração amarela intensa após reação com solução etanólica de DPPH, e provavelmente apresentam atividade antioxidante.



Fonte: Carmelita Gomes da Silva, 2008.

FIGURA 73: Análise qualitativa da atividade antioxidante das frações 10 à 19.

As amostras 9 e 18 apresentaram fluorescência sob luz UV o que é característico de flavonóides, tais metabólitos segundo Silva *et al.* (2007a) são as mais eficientes moléculas antioxidantes, caso tais amostras apresentem flavonóides sua atividade antioxidante pode ser atribuída à presença destes.

O extrato bruto das folhas de *Bauhinia longifolia* (amostras 1, 2 e 8) não apresentou atividade antioxidante, o fato de algumas frações obtidas por seu fracionamento cromatográfico terem apresentado atividade antioxidante sugere a ocorrência do fenômeno antagonismo, onde uma ou mais substâncias presentes no extrato bruto inibem a atividade de um ou mais compostos ativos, segundo Sixel & Pecinalli (2005) tal fenômeno dificulta a interpretação dos resultados, devido ao mascaramento dos efeitos do extrato bruto.

A tabela 4 apresenta o resultado da análise qualitativa da atividade antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia* bem como a relação entre a numeração das frações e a numeração utilizada no ensaio antioxidante.

Legenda	Frações	Número	Amostras Ativas
BLC1FR01	2 – 8	17	
BLC1FR02	11 – 16	19	
BLC1FR03	17 – 26	18	X
BLC1FR04	27 – 29	12	
BLC1FR05	30 – 40	09	X
BLC1FR06	41, 43 e 45	16	
BLC1FR07	42	13	
BLC1FR08	46	06	X
BLC1FR09	47 e 49	04	
BLC1FR10	48	11	
BLC1FR11	50 – 52	10	
BLC1FR12	53	03	X
BLC1FR13	54 – 59	07	X
BLC1FR14	54 – 59 A	05	X
BLC1FR15	60 – 64	15	X
BLC1FR16	60 – 64 A	14	X
EBFBL 01	Extrato Bruto	01	
EBFBL 02	Extrato Bruto	02	
EBFBL 08	Extrato Bruto	08	

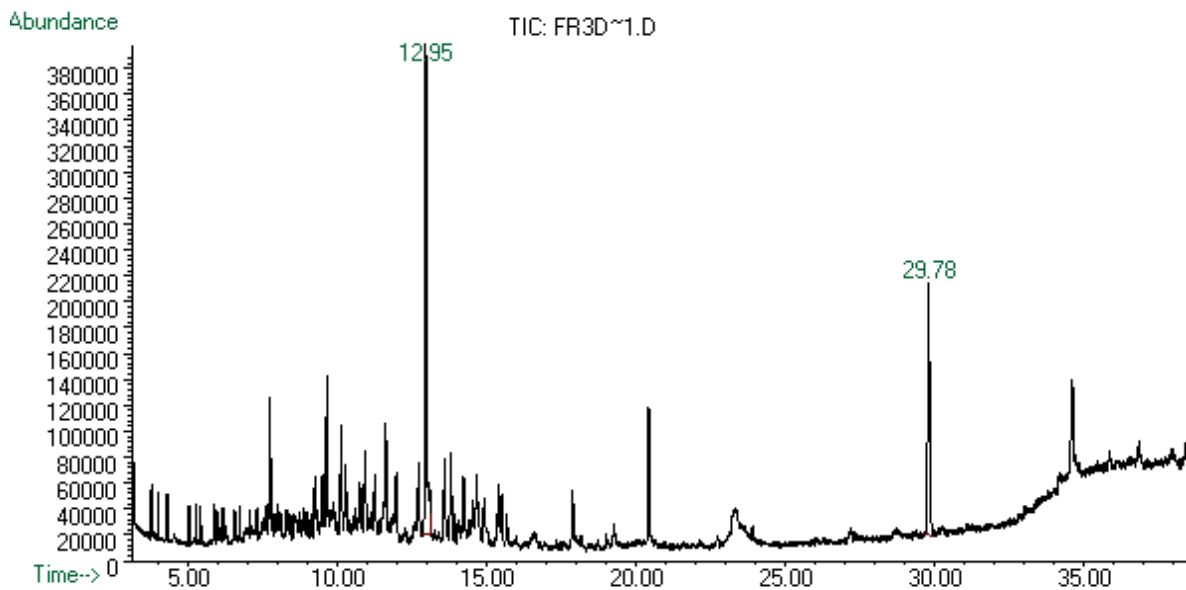
BLC1FR: Fração obtida pelo fracionamento cromatográfico do extrato bruto das folhas de *Bauhinia longifolia* ; EBFBL = Extrato Bruto das Folhas de *Bauhinia longifolia*.

Fonte: Dados da autora, 2008.

TABELA 4: Resultados da análise qualitativa da atividade antioxidante das frações cromatográficas e do extrato etanólico das folhas de *Bauhinia longifolia*.

4.4 – Caracterização química por CG-EM das frações ativas

A análise por CG-EM da fração número 3 (frações 17-26) conforme pode ser observado na figura 74 revelou a presença de dois compostos majoritários com tempos de retenção de 12,95 e 29,78 minutos respectivamente.



Fonte: Wilton José Ferreira, 2008.

FIGURA 74: Cromatograma obtido para a fração número 3.

O espectro de massa (Figura 75) obtido para o composto com tempo de retenção de 12,95 minutos revelou que o mesmo apresenta massa molecular de 220,18 g e que à 96 % de probabilidade equivale ao sesquiterpeno (+) - espatulenol. Duarte-Almeida *et al.* (2004) observaram que tal sesquiterpeno é o composto majoritário do óleo volátil obtido das folhas de *Bauhinia longifolia*.

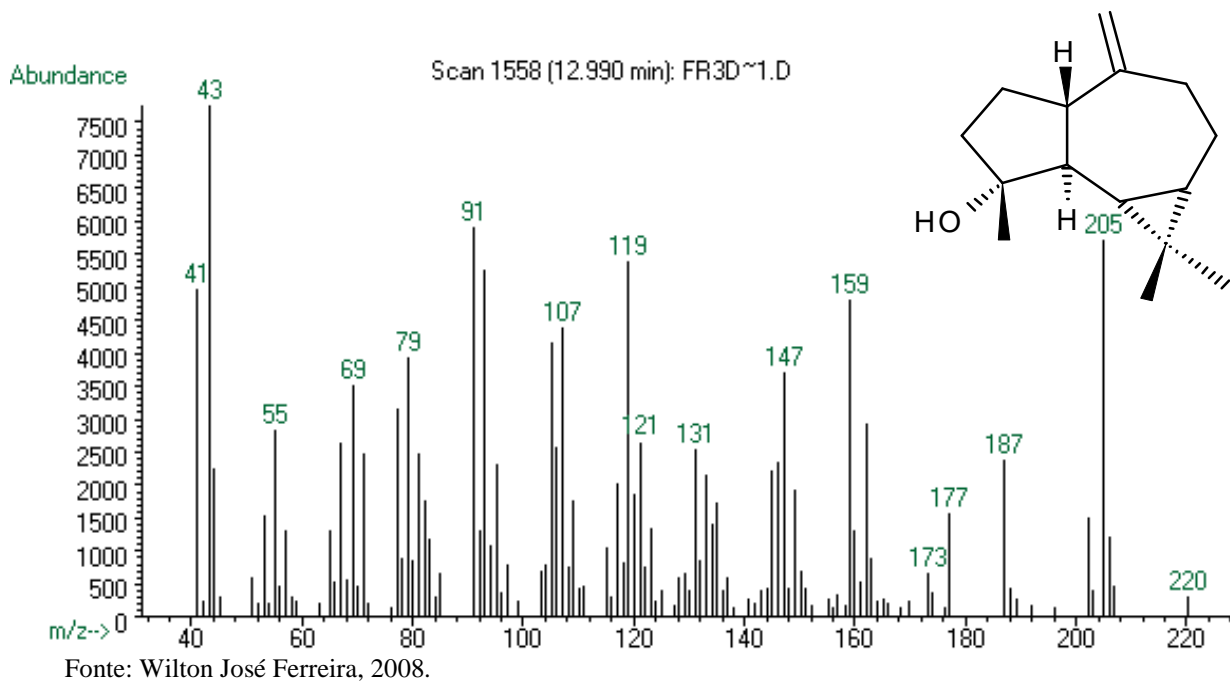


FIGURA 75: Espectro de massa do composto referente ao sesquiterpeno (+) - espatulenol.

Na fração número 5 (frações 30-40) foi isolado um composto com tempo de retenção de 17,71 minutos. Conforme pode ser observado na figura 76, tal composto apresentou quase 90 % de abundância, demonstrando a eficiência do processo de separação cromatográfica.

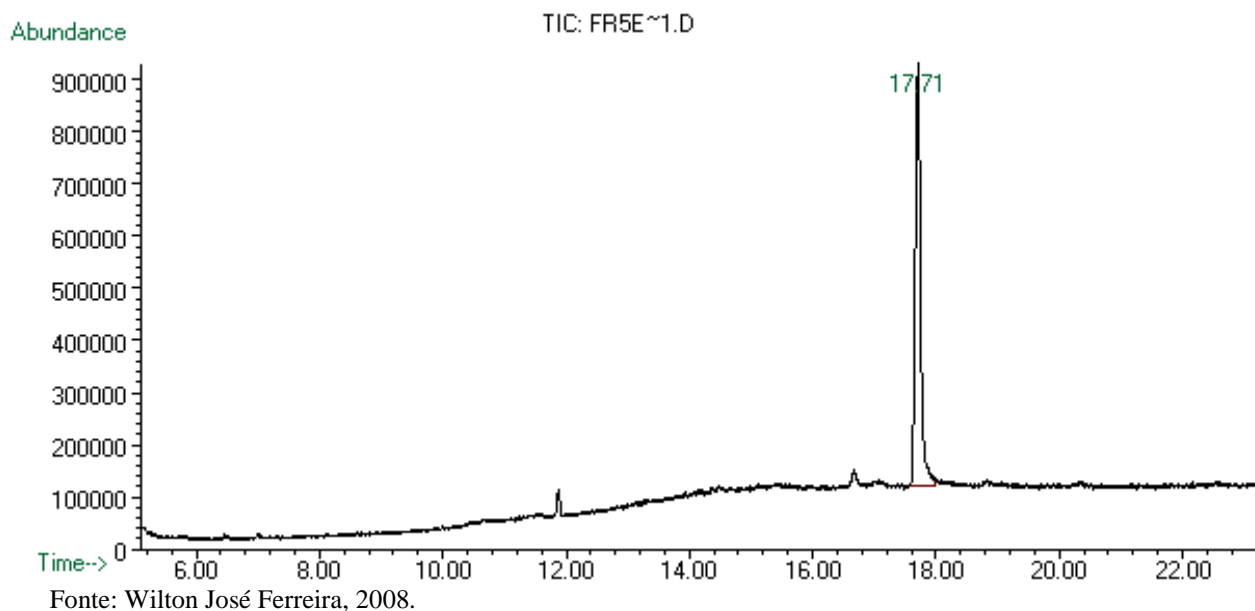


FIGURA 76: Cromatograma obtido para a fração número 5.

O espectro de massa do composto com Rt = 17,665 minutos, revelou que o mesmo apresenta massa molecular de 430,38 g e que à 96 % de probabilidade equivale ao caroteno α – tocoferol. Como pode ser observado o espectro de massa de tal composto apresentou como fragmentos principais íons com m/z 430, 207 e 165, sendo este último o de maior abundância. A fim de confirmar a identidade de tal composto realizar-se-à futuramente uma análise por RMN H^1 .

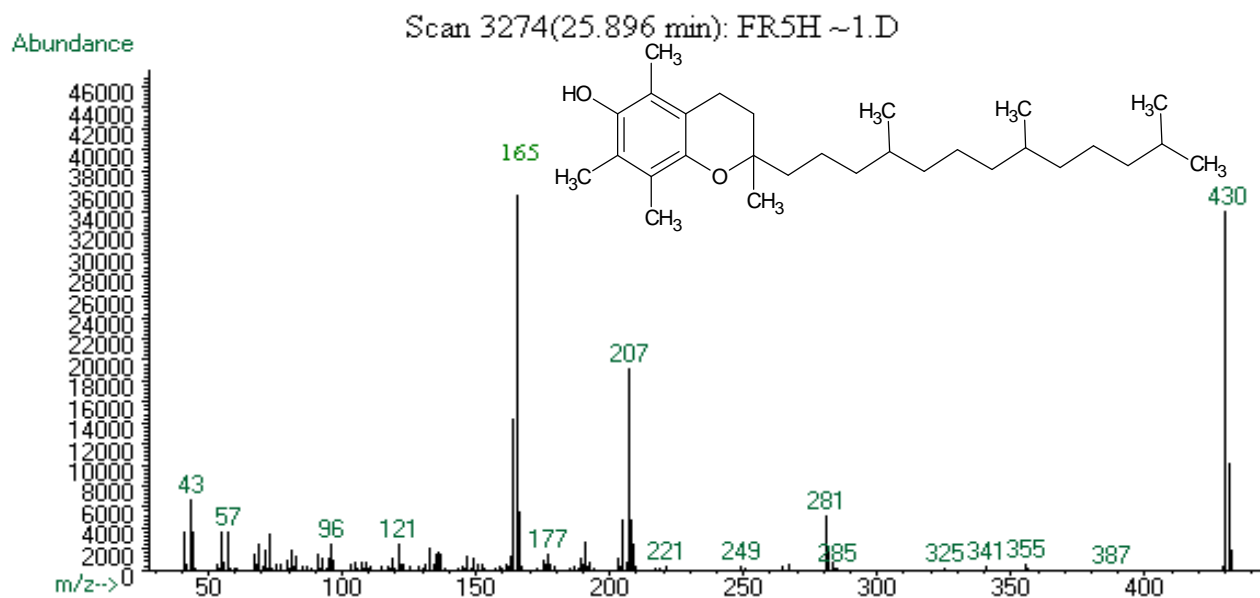
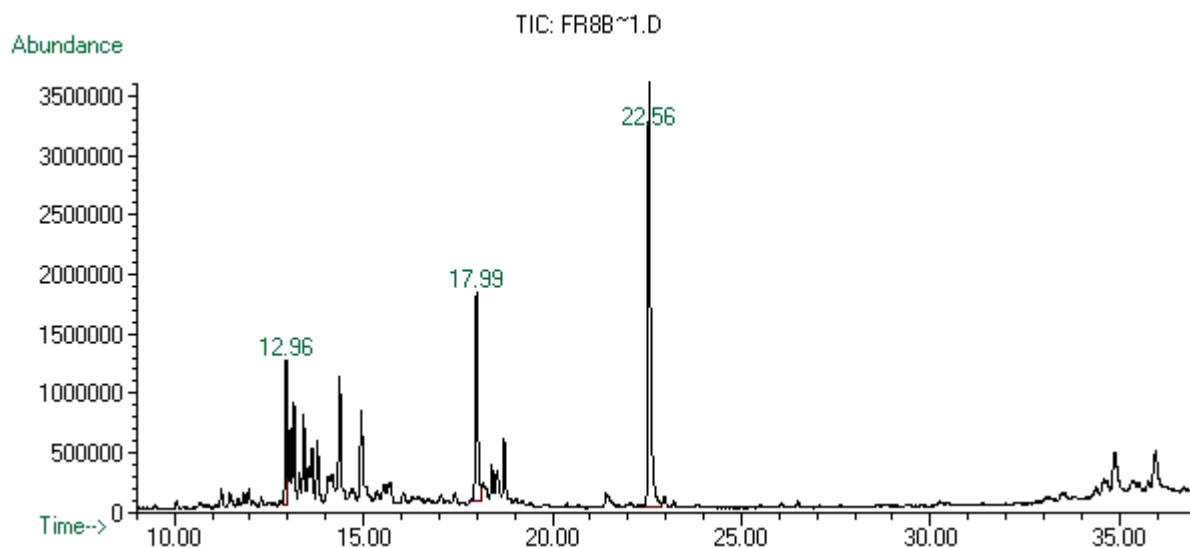


FIGURA 77: Espectro de massa do composto α – tocoferol.

O α – tocoferol é uma das oito vitaminas do complexo E, nos vegetais atua na proteção contra danos causados pela radiação UV e pelos radicais livres (de SIQUEIRA *et al.*, 2003).

Segundo Arceo (2004) o α – tocoferol é considerado um dos mais eficientes compostos antioxidantes, tal composto atua na inibição da peroxidação lipídica, consequentemente diminuindo a produção e acúmulo de radicais livres, protegendo a célula do estresse oxidativo (de OLIVEIRA, 2005).

A análise por CG-EM da fração número 8 (fração 46) revelou a presença de três compostos majoritários com tempos de retenção de 12,96 , 17,99 e 22,56 minutos respectivamente (Figura 78). O composto com $R_t = 12,96$ minutos à probabilidade de 99% equivale ao (+) – espatulenol.



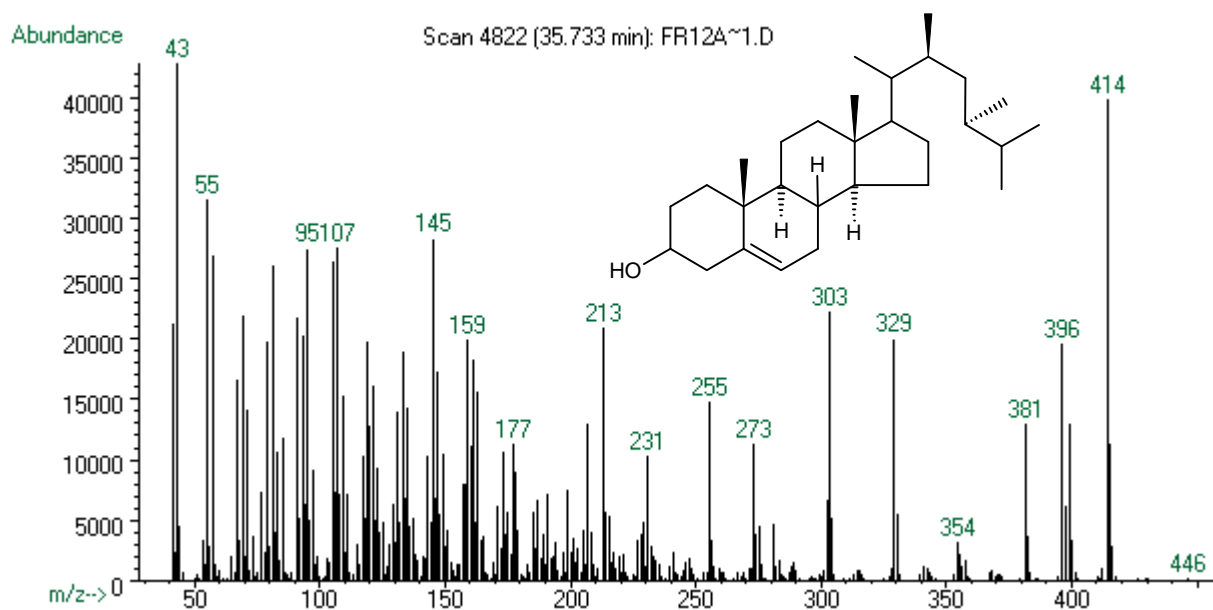
Fonte: Wilton José Ferreira, 2008.

FIGURA 78: Cromatograma obtido para a fração número 8.

O espectro de massa do composto com $R_t = 22,56$ minutos (Figura 79) revelou que tal composto apresenta massa molecular de 296,31 gramas e fórmula molecular $C_{20}H_{40}O$, e que à 91% de probabilidade equivale ao 3,7,11,15 – tetrametil - 2 - hexadecen -1- ol diterpeno conhecido vulgarmente por fitol. Neste espectro o pico correspondente ao íon molecular ($m/z = 296$) apresentou-se em pequena abundância, sendo os fragmentos com m/z 71 e 123 os mais abundantes.

Segundo de Siqueira *et al.* (2003) o fitol é um diterpeno de grande ocorrência em vegetais, que por se tratar de um constituinte na molécula de clorofila está presente em todas as espécies clorofiladas.

O espectro de massa do composto com $R_t = 35,55$ minutos, revelou que o mesmo apresenta massa molecular igual à 414,39 gramas e fórmula molecular $C_{29}H_{50}O$ sendo à 99% de probabilidade equivalente ao (22R,24S) - 22,24 – dimetilcolesterol. O espectro revelou que os principais fragmentos foram os íons com m/z 414, 55 e 43.



Fonte: Wilton José Ferreira, 2008.

FIGURA 81: Espectro de massa do composto (22R,24S) - 22,24 – dimetilcolesterol.

A tabela 5 mostra os compostos majoritários caracterizados nas amostras com potencial antioxidante, utilizando-se a biblioteca eletrônica Wiley 275.

TABELA 5: Compostos majoritários caracterizados por CG-EM das amostras com potencial antioxidante.

Tempo de Retenção (min)	Íons Principais (m/z)	Composto (Probabilidade%)	Fração
12.95	205, 91, 41	(+) - espatulenol (96)	03
12.96	205, 91, 41	(+) - espatulenol (99)	08
17.71	430, 207, 165	α - tocoferol (96)	05
22.56	123 , 71	fitol (91)	08
35.55	414, 55, 43	22,24-dimetilcolesterol (99)	12

Fonte: Dados da autora, 2008.

5 – CONCLUSÃO

Bauhinia longifolia apresenta floração no período da primavera e aparentemente polinização quiropterófila, sendo de grande ocorrência nas áreas de cerrado da cidade de Luz-MG.

Os processos de extração das folhas de *Bauhinia longifolia* em etanol e o fracionamento cromatográfico do extrato bruto apresentaram rendimento de 5,38 e 13,24% respectivamente.

Bauhinia longifolia demonstrou-se uma interessante fonte de substâncias com potencial antioxidante sobre o radical DPPH, porém o extrato bruto de suas folhas foi inativo, sugerindo a ocorrência de antagonismo.

A análise por CG-EM das frações com potencial antioxidante revelou que as mesmas são constituídas por: terpenos como o (+) - espatulenol e o fitol, o lipídio 22,24 – dimetilcolesterol e o caroteno α - tocoferol, um dos mais eficientes compostos antioxidantes existentes.

A busca por substâncias com potencial antioxidante é de extrema importância em especial quando se tratando de substâncias de origem natural. *Bauhinia longifolia* demonstrou-se uma promissora fonte de substâncias antioxidantes.

Visto que por motivo de força maior não foi possível realizar a análise por CG-EM das amostras de número 7 e 15 e do extrato bruto das folhas de *Bauhinia longifolia* torna-se indispensável a posterior realização desta.

Considerando-se que foi realizado somente a análise qualitativa e um fracionamento cromatográfico, uma futura avaliação quantitativa da atividade antioxidante bem como o subfracionamento cromatográfico das frações ativas e posterior análise química por métodos como RMN H^1 e RMN C^{13} serão futuramente realizados a fim de se comprovar quantitativamente o potencial antioxidante de tais frações, obter compostos mais puros e elucidar suas estruturas, respectivamente. Um objetivo futuro trata-se de publicar em literatura especializada os resultados do presente estudo a fim de aumentar as referências sobre *Bauhinia longifolia* as quais são bastante escassas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACD/CHEMSKETCH, Free Version, version 8.17. Advanced Chemistry Development Inc., 2005. Conjunto de programas. 1 CD-ROM.

ALLINGER, N. L.; CAVA, M. P.; JONGH, D. C.; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química Orgânica**. 2ª ed. Trad. ALENCASTRO *et al* . Rio de Janeiro: LTC, 1976. 961 p.

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

ARAÚJO, M. A. M. **Das ervas medicinais à fitoterapia**. 1ª ed. São Paulo: Ateliê Editorial, 2002. 157p.

ARCEO, M. en C. F. L. **Efecto antioxidante de la melatonina exógena y posible disminución de la fibrosis en las lesiones esofágicas por cáusticos. Estudio experimental**. 2004. 45p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Universidade de Colima, Colima.

ARGOLO, A. C. C. ; SANT'ANA, A. E. G. ; PLETSCHE, M. ; COELHO, L. C. B. B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*. **Bioresource Technology**, n. 95, p. 229-233, 2004.

AZEVEDO, C. R. ; MACIEL, F. M. ; SILVA, L. B. ; FERREIRA, A. T. S. ; CUNHA, M. da. ; FERNANDES, K. V. S. ; OLIVEIRA, A. E. A. ; XAVIER-FILHO, J. Isolation and intracellular localization of insuline-like proteins from leaves of *Bauhinia variegata*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, n. 39, p. 1435-1444, 2006.

BACCHI, E. M. Alcalóides tropânicos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 793-817.

BAH, M. ; PEREDA-MIRANDA, R. Alcalóides pirrolizidínicos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 847-868.

BARA, M. T. ; RIBEIRO, P. A. M. ; ARANTES, M. do. C. B. ; AMORIM, L. L. S. S. ; PAULA, J. R. de. Determinação do teor de princípios ativos em matérias-primas vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 2, p. 211-215, abr/jun. 2006.

BARBOSA-FILHO, J. M. Lignananas, neolignananas e seus análogos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 557-575.

BARREIRO, E. J. ; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 536p.

BERMUDEZ, J. A. Z. **Indústria farmacêutica, estado e sociedade**. São Paulo: Hucitec, 1995. 204p.

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

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**, n. 70, p. 795-801, 2007.

BRACA, A. ; TOMMASI, N. de. ; BARI, L. di. ; PIZZA, C. ; POLITI, M. ; MORELLI, I. Antioxidant principles of *Bauhinia tarapotensis*. **Journal of Natural Products**, n. 64, p. 892-895, 2001.

CARVALHO, J. C. T. ; GOSMANN, G. ; SCHENKEL, E. P. Compostos fenólicos simples e heterosídicos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 519-535.

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, n. 1, p. 99-104, 1998.

CHEM DRAWN, version 8.0: Cambridge Soft Corporation, 2003. Conjunto de programas. 1 CD-ROM.

CHIESA, F. A. F. ; MOYNA, P. Alcalóides esteroidales. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2000. p. 869-883.

CORRÊA, R. M. ; BERTOLUCCI, S. K. V. ; PINTO, J. E. B. P. ; REIS, E. S.; ALVES, T. L. Rendimento de óleo essencial e caracterização organoléptica de folhas de assa-peixe submetidas a diferentes métodos de secagem. **Ciências Agrotécnicas**, Lavras, v. 28, n. 2, p. 341-346, mar./abr. 2004.

DAMASCENO, D. C. ; VOLPATO, G. T. ; CALDERON, I. de. M. P. ; RUDGE, M. V. C. Oxidative stress and diabetes in pregnant rats. **Animal Reproduction Science**, n. 72, p. 235-244, 2002.

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**, n. 11, p. 196-201, 2004.

DIAS, B. F. S. **A implementação da convenção sobre biodiversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: André Tosello, 1996. 10p.

DUARTE-ALMEIDA, J. M. ; NEGRI, G. ; SALATINO, A. Volatile oils in leaves of *Bauhinia* (Fabaceae Caesalpinioideae). **Biochemical, Systematics and Ecology**, n. 32, p. 747-753, 2004.

ENGEL, I. C. ; FERREIRA, R. A. ; CECHINEL-FILHO, V. ; SILVA, C. M. Controle de qualidade de drogas vegetais à base de *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 18, n. 2, p. 258-264, abr/jun. 2008.

FALKENBERG, M. de. B. ; SANTOS, R. I. dos. ; SIMÕES, C. M. O. Introdução à análise fitoquímica. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 229-245.

FALKENBERG, M. de. B. Quinonas. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 657-683.

FORTES, I. C. P. **Fundamentos e aplicações de CG/EM**. Belo Horizonte: ICEX-UFMG, 2006.29 p. Apostila.

FRAGA, C. A. M. ; BARREIRO, E. J. Cardiotônicos: histórico e perspectivas de uma importante classe de agentes terapêuticos. **Química Nova**, v. 19, n. 2, p. 182-189, 1996.

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

GOBBO-NETO, L. ; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUIMARÃES-BEELLEN, P. M. ; BERCHIELLI, T. T. ; BEELEN, R. ; ARAÚJO FILHO, J. ; OLIVEIRA, S. G. de. Characterization of condensed tannins from native legumes of the brazilian northeast semi-arid. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 63, n. 6, p. 552-528, nov/dez. 2006.

HEINZMANN, B. M. Compostos com enxofre. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 741-763.

HENRIQUES, A. T. ; LIMBERGER, R. P. ; KERBER, V. A. ; MORENO, P. R. H. Alcalóides: generalidades e aspectos básicos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 765-791.

KAEWAMATAWONG, R. ; KITAJIMA, M. ; KOGURE, N. ; TAKAYAMA, H. Flavonols from *Bauhinia malabarica*. **Journal of Natural Medicine**, n. 62, p. 364-365, 2008.

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.

KUSTER, R. M. ; ROCHA, L. M. Cumarinas, cromonas e xantonas. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 537-556.

LINO, C. de. S. ; DIÓGENES, J. P. L. ; PEREIRA, B. A. ; FARIA, R. A. P. G. ; ANDRADE-NETO, M. ; ALVES, R. S. ; QUEIROZ, M. G. R. de. ; SOUSA, F. C. F. de. ; VIANA, G. S. B. Antidiabetic activity of *Bauhinia forficata* extracts in alloxan-diabetic rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n. 1, p.125-127, jan. 2004.

LORENZI, H. ; MATOS, F. J. A. *Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas*. São Paulo: Instituto Plantarum de estudos da flora LTDA, 2002, 512 p.

MACIEL, M. A. M. ; PINTO, A. C. ; VEIGA JÚNIOR, V. F. ; GRYNBERG, N. F. ; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v. 25, n. 3, 2002.

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**, n. 36, p. 227-229, 2008.

MALI, R. G. ; MAHAJAN, S. G. ; MEHTA, A. A. Rakta Kanchan (*Bauhinia variegata*): chemistry, traditional and medicinal uses – a review. **Pharmacognosy Reviews**, v. 1, n. 2, p. 314-319, jul/dez. 2007.

MANN, J. **Secondary metabolism**. 2.ed. Oxford: Clarendon, 1987. 129 p.

MATOS, J. M. D. ; MATOS, M. E. O. ; MEDEIROS, M. A. Plantas do Nordeste – Contribuição para o estudo fitoquímico de *Bauhinia macrostachya* BENT. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 1, supl. 1, p. 31-32, 1986.

MENDES, B. G. ; MACHADO, M. J. ; FALKENBERG, M. Triagem de glicolipídios em plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, n. 4, p. 568-575, out/dez. 2006.

MENEZES, F. de. 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. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 1, p. 8-13, Jan/Mar. 2007.

MENTZ, L. A. ; BORDIGNON, S. A. de. L. Nomenclatura botânica, classificação e identificação de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 211-227.

MONTEIRO, J. M. ; ALBUQUERQUE, U. P. de. ; ARAÚJO, E. de. L. ; AMORIM, E. L. C. de. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOYNA, P. ; HEINZEN, H. Lípidios: química y productos naturales que los contienen. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 435-466.

MURILO, E. ; TIQUE, M. M. ; OSPINA, F. ; LOMBO, O. Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemiante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in vitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. **Revista Colombiana de Ciências Químicas Farmacêuticas**, v. 35, n. 1, p. 64-80, 2006.

NORDARI, R. O. ; GUERRA, M. P. Aspectos genéticos e moleculares da produção vegetal. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 29-44.

OLIVEIRA, J. S. de. **Caracterização, extração e purificação por cromatografia de compostos de Urucum (*Bixa Orellana* L.)**. 2005. 192p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

OLIVEIRA, T. T. ; NAGEM, T. J. ; LEÃO, M. A. ; FONSECA, C. C. A. ; PEREIRA, H. J. V. ; SANTOS, M. H. dos. ; LIMA, E. Q. de. Atividade antidiabética de *Bauhinia sacra*, corantes naturais, ácido cinâmico e 7- epiclusianona. **NewsLab**, n. 72, p. 172-190, 2005a.

OLIVEIRA, C. Z. ; MAIORANO, V. A.; MARCUSSI, S. ; SANT'ANA, C. D. ; JANUÁRIO, A. H. ; LOURENÇO, M. V. ; SAMPAIO, S. V. ; FRANÇA, S. C. ; PEREIRA, P. S. ; SOARES, A. M. Anticoagulant and antifibrinolytic properties of the aqueous extract from *Bauhinia forficata* against snake venoms. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 98, p. 213-216, 2005b.

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* Link. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 5, n. 1, p. 11-13, 2002.

PEDROSA, R. C. ; YUNES, R. A. ; CECHINEL-FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 147-152, 2001.

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, n. 7, p. 1-7, 2004.

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 instreptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 81, p. 191-197, 2002.

PEREDA-MIRANDA, R. ; TAKETA, A. T. C. ; VILLATORO-VERA, R. A. Alucinógenos naturais: etnobotânica e psicofarmacologia. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 919-958.

PETTIT, G. R. ; NUMATA, A. ; IWAMOTO, C. ; USAMI, Y. ; YAMADA, T. ; OHISHI, H. ; CRAGG, G. M. Antineoplastic agents 551. Isolation and structures of bauhiniastatins of *Bauhinia purpurea*. **Journal of Natural Products**, n. 69, p. 323-327, 2006.

PINHEIRO, T. S. D. B. ; JOHANSSON, L. A. P. ; PIZZOLATTI, M. G. ; BIAVATTI, M. W. Comparative assessment of kaempferitrin from medicinal extracts of *Bauhinia forficata* Link. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 41, p. 431-436, 2006.

PINTO, A. C. ; SILVA, D. H. S. ; BOLZANI, V. S. ; LOPES, N. P. ; EPIFÂNIO, R. A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, v. 45, n. 25, supl. 1, p. 173-189, 2004.

PINTO, L. S. ; ANDRADE-NETO, M. ; BACARIN, M. A. ; CASTELLÓN, R. R. ; GADELHA, T. S. ; GADELHA, C. A. ; CAVADA, B. S. Caracterização química e bioquímica de sementes de *Bauhinia variegata* L. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, n. 3, p. 15-22, 2005.

PIZZOLATTI, M. G. ; CUNHA JUNIOR, A. ; SZPOGANICZ, B. ; SOUSA, E. de. ; BRAZ-FILHO, R. ; SCHRIPSEMA, J. Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (Leguminosae). **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 466-469, 2003.

POSER, G. L. von. Polissacarídeos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 497-517.

POSER, G. L. von.; MENTZ, L. A. Diversidade biológica e sistemas de classificação. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 75-89.

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**, n. 98, p. 359-365, 2006.

RATES, S. M. K. ; BRIDI, R. Heterosídeos cardioativos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 685-710.

RAVEN, P. H. ; EVERT, R. F. ; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal**. Tradução de Antônio Salatino *et al.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p. 31-36. Título original: *Vegetal Biology*.

REDDY, M. V. B. ; REDDY, M. K. ; GUNASEKAR, D. ; CAUX, C. ; BODO, B. A flavanone and a dihydrodibenzoxepin from *Bauhinia variegata*. **Phytochemistry**, n. 64, p. 879-882, 2003.

REIS, M. S. dos. ; MARIOT, A. Diversidade natural e aspectos agronômicos de plantas medicinais. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2^a ed. rev. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. p. 39-60.

RIBEIRO-NETO, J. A. ; GASPAR JÚNIOR, P. J. ; ALVES, S. N. ; TEIXEIRA, J. L. Obtenção de extratos de *Bauhinia rufa* (pata-de-vaca) e sua possível utilização no controle do mosquito *Culex quinquefasciatus*. In: XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química. **Anais...** Uberlândia:UFU,2007.

ROBBERS, J. E. ; SPEEDIE, M. K. ; TYLER, V. E. ; Pharmacognosy and pharmacobiotechnology. Baltimore: Willians & Wilkins, 1996. 215 p.

SALATINO, A. ; BLATT, C. T. T. ; SANTOS, D. Y. A. C. dos. ; VAZ, A. M. S. F. Foliar flavonoids of nine species of *Bauhinia*. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22 , n. 1, 7 p. 1999.

SANTOS , S. da. C. ; MELLO, J. C. P. de. Taninos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6^a ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 615-656.

SANTOS, R. I. dos. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 403-434.

SCHENKEL, E. P. ; GOSMANN, G. ; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 711-740.

SCHENKEL, E. P. ; GOSMANN, G. ; PETROVICK, P. R. Produtos de origem vegetal e o desenvolvimento de medicamentos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 371-400.

SCHENKEL, E. P. ; ZANNIN, M. ; MENTZ, L. A. ; BORDIGNON, S. A. de. L. ; IRGANG, B. Plantas tóxicas. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p.959-993.

SCHRIPSEMA, J. ; DAGNINO, D. ; GOSMANN, G. Alcalóides indólicos. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 819-846.

SHARANABASAPPA, G. K. ; SANTOSH, M. K. ; SHAILA, D. ; SEETHARAM, Y. N. ; SANJEEVARAO, I. Phytochemical studies on *Bauhinia racemosa* Lam. *Bauhinia purpurea* Linn. and *Hardwickia binata* Roxb. **E-Journal of Chemistry**, v. 4, n. 1, p. 21-31, jan. 2007.

SILVA, C. G. da. ; HERDEIRO, R. S. ; MATHIAS, C. J. ; PANEK, A. D. ; SILVEIRA, C. S. ; RODRIGUES, V. P. ; RENNÓ, M. N. ; FALCÃO, D. Q. ; CERQUEIRA, D. M. ; MINTO, A. B. M. ; NOGUEIRA, F. L. P. ; QUARESMA, C. H. ; SILVA, J. F. M. ; MENEZES, F. S. ; ELEUTHERIO, E. C. A. Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. **Pharmacological Research**, n. 52, p. 229-233, 2005.

SILVA, C. G. da. **Avaliação do potencial anti-oxidante de extratos de plantas Brasileiras e da isoquercetina no modelo de célula eucariótica, *Saccharomyces cerevisiae***. 2007. 164 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

SILVA, E. G. da. ; BEHR, G. A. ; ZANOTTO-FILHO, A. ; LORENZI, R. ; PASQUALI, M. A. de B. ; RAVAZOLO, L. G. ; BORDIGNON JÚNIOR, C. L. ; SILVA, F. A. da. ; ABOY, A. L. ; BASSANI, V. L. ; HENRIQUES, A. T. ; REGINATTO, F. H. ; DALPIZZOL, 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, E. M. ; SOUZA, J. N. S. ; ROGEZ, H. ; REES, J. F. ; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from Amazon region. **Food Chemistry**, n. 101, p. 1012-1018, 2007a.

SILVA, F. R. M. B. ; SZPOGANICZ, B. ; PIZZOLATTI, M. G. ; WILLRICH, M. A. V. ; SOUSA, E. de. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, n. 83, p. 33-37, 2002.

SILVA, J. A. ; DAMICO, D. C. S. ; BALDASSO, P. A. ; MATTIOLI, M. A. ; WINCK, F. V. ; FRACETO, L. F. ; NOVELLO, J. C. ; MARANGONI, S. Isolation and biochemical characterization of a galactoside binding lectin from *Bauhinia variegata* Candida (Bvcl) seeds. **The Protein Journal**, v. 26, n. 3, p. 193-201, abr. 2007b.

SILVA, K. L. da.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p. 449-454, 2002.

SIMÕES, C. M. O. ; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 2007. p. 467-495.

SIXEL, P. J. ; PECINALLI, N. R. Características farmacológicas gerais das plantas medicinais. **Infarma**, v. 16, n. 13-14, p. 74-77, 2005.

SKOOG, D. A. ; HOLLER, F. J. ; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5ª ed. Trad. CARACELLI *et al.* Porto Alegre: Bookman, 2002. 836p.

SOARES, J. C. M. ; COSTA, S. T. da. ; CECIM, M. Níveis glicêmicos e de colesterol em ratos com *Diabetes mellitus* aloxano induzido, tratados com infusão de *Bauhinia candicans* ou *Syzygium jambolanum*. **Ciência Rural**, v. 30, n. 1, p. 113-118, 2000.

SOUSA, E. de. ; 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**, n. 67, p. 829-832, 2004.

VAZ, A. M. S. F. ; TOZZI, A. M. G. A. Sinopse de *Bauhinia* sect. *Pauletia* (Cav.) DC. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cercideae) no Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 3, p. 477-491, Jul/Set. 2005.

VEIGA JUNIOR, V. F. ; PINTO, A. C. ; MACIEL, M. A. M. Plantas Medicinais: Cura segura?. **Química Nova**, v. 28, n. 3, p. 519-528, 2005.

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, 1p. 2001.

YADAVA, R. N. ; TRIPHATHI, P. A novel flavone glycoside from the stem of *Bauhinia purpurea*. **Fitoterapia**, n. 71, p. 88-90, 2000.

ZUANAZZI, J. A. S. ; MONTANHA, J. A. Flavonóides. In: SIMÕES, C. M. ; SCHENKEL, E. P. ; GOSSMAN, G. ; MELLO, J. C. P. de. ; MENTZ, L. A. ; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 6ª ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC