



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ANÁLISE DO REMÉDIO ARTESANAL “TINTURA DE PATA-
DE-VACA” TENDO A TINTURA DE *Bauhinia monandra* Kurz
COMO REFERÊNCIA**

Ana Paula Paiva da Silva

Belém – PA
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ANÁLISE DO REMÉDIO ARTESANAL “TINTURA DE PATA-
DE-VACA” TENDO A TINTURA DE *Bauhinia monandra* Kurz
COMO REFERÊNCIA**

Autora: Ana Paula Paiva da Silva

Orientador: Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa

Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Valério Santos da Silva

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFPA

Silva, Ana Paula Paiva da, 1974-
Análise do remédio artesanal "tintura de
pata-de-vaca" tendo a tintura de Bauhinia Monandra Kurz
como referência / Ana Paula Paiva da Silva. - 2016.

Orientador: Wagner Luiz Ramos Barbosa;
Coorientador: Marcos Valério Santos da
Silva.

Dissertação (Mestrado) - Universidade
Federal do Pará, Instituto de Ciências da Saúde,
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Belém, 2016.

1. Diabetes mellitus. 2. Fitoterapia. 3.
Bauhinia monandra. 4. Medicamentos. 5. Rutina.
I. Título.

CDD 22. ed. 616.462

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ana Paula Paiva da Silva

Análise do remédio artesanal “tintura de pata-de-vaca” tendo a tintura de *Bauhinia monandra* Kurz como referência

Aprovado em: 17 de março de 2016

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, área de concentração: Fármacos e Medicamentos, do Instituto de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Pará como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas.

Banca examinadora

Prof. Dr. Wagner Luiz Ramos Barbosa – UFPA

Orientador



Prof. Dr. Leandro Machado Rocha - UFF

Examinador

Prof. Dra. Ana Cristina Baetas Gonçalves - UFPA

Examinadora

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Plantas medicinais	15
2.2 Diabete melito	17
2.3 Etnofarmácia no distrito de Marudá – Grupo de Mulheres Erva Vida	19
2.4 <i>Bauhinia monandra</i> Kurz	20
2.5 Metabolismo vegetal	23
2.6 Compostos fenólicos	24
2.6.1 FLAVONOIDES	24
3 OBJETIVOS	28
3.1 Objetivo geral	28
3.2 Objetivos específicos	28
4 MATERIAL E MÉTODOS	31
4.1 Material	31
4.1.1 MATÉRIA PRIMA VEGETAL.....	31
4.1.2 REMÉDIO ARTESANAL “TINTURA DE PATA-DE-VACA”	31
4.1.3 SOLVENTES, REAGENTES E SOLUÇÕES.....	31
4.1.4 EQUIPAMENTOS	31
4.2 Métodos	32
4.2.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL.....	32
4.2.2 ANATOMIA E MICROQUÍMICA VEGETAL.....	32
4.2.3 ABORDAGEM FÍSICO-QUÍMICA DAS DROGAS VEGETAIS	33
4.2.3.1 Perda por dessecação do material vegetal ou teor de umidade.....	33
4.2.3.2 Distribuição granulométrica da droga vegetal	34
4.2.3.3 Determinação de cinzas	34
4.2.4 PREPARAÇÃO DAS TINTURAS E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS CONCENTRADOS.....	34
4.2.5 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO RATPV.....	35
4.2.6 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR.....	35
4.2.7 FRACIONAMENTO	36
4.2.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD).....	36
4.2.9 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE).....	37

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 Identificação botânica.....	39
5.2 Descrição anatômica.....	39
5.3 Análise microquímica das folhas.....	40
5.4 Abordagem físico-química da droga vegetal	42
5.4.1 PERDA POR DESSECAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL OU TEOR DE UMIDADE.....	42
5.4.2 DETERMINAÇÃO GRANULOMÉTRICA DO PÓ DA DROGA VEGETAL.....	42
5.4.3 DETERMINAÇÃO DE CINZAS TOTAIS.....	43
5.5 Controle de qualidade microbiológico do RATPV.....	43
5.6 Rendimento do Extratos Hidroetanólico Concentrado (EHC).....	44
5.7 Prospecção fitoquímica preliminar.....	44
5.8 Fracionamento de EHC.....	45
5.9 Análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)	46
5.10 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	48
6 CONCLUSÃO	54
REFERÊNCIAS.....	56
ANEXOS	

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Evolução do diabetes no mundo (2000 a 2030).....	16
Figura 2 - Sede do Grupo de Mulheres Erva Vida, em Marudá PA.....	19
Figura 3 - Ramos com frutos (legume) de <i>Bauhinia monandra</i> Kurz.....	21
Figura 4 - Ramos floridos e folha de <i>Bauhinia monandra</i> Kurz.....	21
Figura 5 - Esquema mostrando as principais vias do metabolismo secundário.....	24
Figura 6 - Estrutura química básica dos flavonoides.....	25
Figura 7 - Estrutura das classes básicas de flavonoides.....	26
Figura 8 - Estrutura química da rutina.....	26
Figura 9 - Fluxograma das atividades relatadas.....	30
Quadro 1 - Reagentes utilizados nos testes microquímicos.....	33
Figura 10 - Face adaxial da folha de <i>B. monandra</i> mostrando o padrão de nervação.....	39
Figura 11 - Fotomicroscopia da folha de <i>Bauhinia monandra</i> Kurz, corte transversal..	40
Quadro 2 - Resultado dos testes microquímicos realizados em <i>B. monandra</i>	41
Figura 12 - Fotomicroscopia dos testes microquímicos positivos em <i>B. monandra</i> (nervura central).....	42
Figura 13 - Placas utilizadas para o controle microbiológico.....	44
Figura 14 - Resultado do controle de qualidade microbiológico do RATPV.....	44
Quadro 3 - Classes de metabólitos detectadas na abordagem fitoquímica preliminar.....	45
Figura 15 - Cromatograma de <i>B. monandra</i> , <i>C. icaco</i> e <i>S. cumini</i> sob luz visível, hexano/acetona 70:30.....	47
Figura 16 - Cromatograma de <i>B. monandra</i> , sob luz ultravioleta 254nm, hexano/acetona 70:30.....	47
Figura 17 - Cromatograma de <i>B. monandra</i> , sob luz ultravioleta 365nm hexano/acetona 70:30.....	48
Figura 18 - Cromatograma de <i>B. monandra</i> , sob luz ultravioleta 365nm, acetato de etila/ácido acético glacial/ácido fórmico/água (100:11:11:26).	48
Figura 19 – Cromatograma de rutina, registrado a 254 nm.....	49
Figura 20 – Perfil cromatográfico por CLAE-DAD do EHC de <i>B. monandra</i> , registrado a 254 nm.....	49

Figura 21 - Cromatogramas obtidos pela análise do EHC por CLAE após adição do padrão rutina, λ 250 nm.....	50
Figura 22 - Cromatograma obtido pela análise do RATPV por CLAE após adição do padrão rutina, λ 250nm.....	51
Figura 23 - Sobreposição dos espectros de ultravioleta da rutina e dos picos correspondentes observados para EHC e RATPV no mesmo Rt.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição do eluente em gradiente em relação ao tempo.....37

Tabela 2 - Rendimento obtido com o fracionamento dos EHC..... 46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA	<i>“American Diabetes Association”</i>
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CLAE-DAD	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector de ultravioleta com Arranjo de Diodos
DM	diabete melito
DMSO	dimetilsulfóxido
EHC	extrato hidroetanólico concentrado
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
EEC	Extratos Etanólicos Concentrados
FAE	fração acetato de etila
FC	fração clorofórmica
FH	fração hexânica
FM	fração metanólica
FR	fração residual
HPLC	<i>“High-performance liquid chromatography”</i>
IAN	Instituto Agrônômico do Norte
NP/PEG	<i>“Natural Products-PolyEthylene Glycol reagent”</i>
OMS	Organização Mundial de Saúde
P.A.	para análise
PACS	Programa Agentes Comunitários de Saúde
ESF	Estratégia Saúde da Família
p/v	peso/volume
RATPV	remédio artesanal <i>“tintura de pata-de-vaca”</i>
RENISUS	Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS
R _f	fator de retenção
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SUS	Sistema Único de Saúde

LISTA DE SÍMBOLOS E UNIDADES

°C	graus Celsius
kg	Quilograma
G	Gramma
µg	Micrograma
%	Porcentagem
L	Litro
µm	Micrômetro
nm	Nanômetro
B	Beta
A	Alfa
M	Massa

RESUMO

SILVA, A. P. P. **Análise do remédio artesanal “tintura de pata-de-vaca” tendo a tintura de *Bauhinia monandra* Kurz como referência. 2016. 66 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Pará, Belém, 2016.**

O diabetes melito é uma entre as diversas patologias que podem ser controladas com o uso de plantas medicinais, que apresentam atividade hipoglicemiante através de diferentes mecanismos. Em Marudá, Marapanim-PA, o Grupo de Mulheres “Erva Vida”, produz e comercializa a “Tintura de pata-de-vaca”, consumida por turistas e moradores locais para tratar o diabetes. Esse remédio é preparado a partir de folhas de *Bauhinia monandra* Kurz (pata-de-vaca). Diferentes classes metabólicas de vegetais já tiveram a ação hipoglicemiante comprovada, como exemplo os flavonoides. Com isso, pretende-se neste trabalho caracterizar o remédio artesanal através de parâmetros farmacobotânicos, farmacognósticos, fitoquímicos e cromatográficos, em comparação com uma tintura de *Bauhinia monandra*, quanto à presença de flavonoides. Tanto a análise fitoquímica preliminar, quanto a análise por Cromatografia em Camada Delgada, detectaram metabólitos fenólicos, possivelmente flavonoides, no remédio artesanal e no extrato hidroetanólico da espécie vegetal. Na análise por CLAE, foi evidenciada a presença de rutina no remédio artesanal bem como no extrato hidroetanólico de *Bauhinia monandra*.

Palavras-chave: diabetes melito, fitoterapia, *Bauhinia monandra*, remédio artesanal, rutina.

ABSTRACT

SILVA, A. P. P. **Analysis handmade medicine "pata-de-vaca tincture", having the *Bauhinia monandra* Kurz tincture as reference. 2016. 66 f. Dissertation (Master's degree). Graduate Program in Pharmaceutical Sciences, Federal University of Pará, Belém, 2016.**

Diabetes mellitus is one of the various pathologies can be controlled with the use of medicinal plants, which exhibit hypoglycemic activity through different mechanisms. In Marudá, Marapanim-PA, the Women's Group "Erva Vida", produces and markets the "Tintura de pata-de-vaca" consumed by tourists and locals to treat diabetes. This remedy is prepared from leaves of *Bauhinia monandra* Kurz (pata-de-vaca). Different metabolic classes of plant already had a proven hypoglycemic action, for example flavonoids. Thus, the aim of this study was to characterize the handmade medicine through pharmacobotanic parameters pharmacognostic, phytochemicals and chromatographic in comparação with a tincture of *Bauhinia monandra*, for the presence of flavonoids. Both the preliminary phytochemical analysis, and the analysis by Thin Layer Chromatography, phenolic metabolites detected, possibly flavonoids in handmade medicine and hydroethanolic extract of plant species. In the analysis by HPLC, it revealed the presence of rutin in handmade medicine as well as in hydroethanolic extract of *Bauhinia monandra*.

Keywords: diabetes mellitus, herbal medicine, *Bauhinia monandra*, handmade remedy, rutin.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais como tratamento de enfermidades é muito comum na sociedade amazônica, haja vista a exuberância da flora medicinal na Amazônia e a prática milenar de seu uso pelas comunidades locais. Nos últimos anos, tem aumentado o número de estudos que comprovam o que já se conhecia empiricamente, visto que a fitoterapia popular é rica em exemplos de plantas utilizadas para diversos fins e que substituem, muitas das vezes, a prescrição médica (YAMADA, 1998; SILVA e CECHINEL, 2002).

A aplicação do saber local acerca da utilização de recursos vegetais no desenvolvimento de fitoterápicos mostra-se como uma estratégia bastante consequente e consistente, pois, pode gerar ocupação e renda a partir da inserção da comunidade organizada no processo de desenvolvimento, produção e entrada do produto assim desenvolvido, no mercado farmacêutico e ainda pode ser adequada do ponto de vista ecológico, quando a matéria prima vegetal para a produção desse fitoterápico for obtida a partir de espécimes cultivados em áreas degradadas (BARBOSA, 2011).

Com o intuito de inserir plantas medicinais na atenção básica à saúde e assim melhorar a qualidade de vida da população, foi criado em 1983 o Projeto Farmácias Vivas por Francisco José de Abreu Matos, professor na Universidade Federal do Ceará (UFC). Revolucionário, de imensurável cunho social e sentido científico, o Farmácias Vivas é direcionado à saúde pública, promove a utilização correta de plantas medicinais e seus extratos, baseada em estudos científicos e com o objetivo de tratar as enfermidades mais comuns na população de baixa renda. O projeto serviu de modelo para a criação, pelo Ministério da Saúde, no âmbito da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, o Programa Farmácias Vivas voltado para o SUS (Sistema Único de Saúde). Antes, a ideia do Farmácias Vivas já havia se espalhado por municípios cearenses e de outros Estados, abrindo espaço para o resgate das tradições etnofarmacológicas da população nordestina. Assim, surgiram os programas municipais e estaduais de fitoterapia, implantados nas Secretarias de Saúde e nas comunidades organizadas (RAMOS, 2012).

Devido ao interesse popular e institucional, o Ministério da Saúde do Brasil instituiu no ano de 2008 o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, dentro do Sistema Único de Saúde (SUS) (BRASIL, 2009), e divulgou a Relação

Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS), contendo 71 espécies vegetais com potencial farmacológico. O objetivo consiste em direcionar as pesquisas científicas financiadas pelos órgãos oficiais de fomento e ampliar o rol de fitoterápicos (BRASIL, 2009). Dentre as espécies constantes da RENISUS, estão algumas do gênero *Bauhinia* (*B. affinis*, *B. forticata* e *B. variegata*).

Mesmo a fitoterapia sendo eficaz, os profissionais da saúde devem orientar quanto às consequências do uso indiscriminado das plantas medicinais. Como se trata de um assunto de Saúde Pública caberia a esses profissionais e aos programas nacionais de saúde (Estratégia Saúde da Família - ESF e Programa Agentes Comunitários de Saúde - PACS) a tarefa de esclarecer as dúvidas da população, orientando a utilização correta de plantas medicinais nas unidades de saúde e nas visitas domiciliares (ARNOUS *et al*, 2005).

O farmacêutico tem especial relevância para o uso racional de plantas medicinais, devendo comprometer-se com a utilização correta delas através da orientação, com informação sobre o produto aos usuários; enfatizando que se trata de um recurso farmacêutico farmacológico, estimulando a notificação de eventuais reações adversas e também valorizando a necessidade da farmacovigilância desses produtos (SOARES *et al.*, 2003).

Em Marudá, distrito de Marapanim-PA, existe o grupo Erva Vida, formado por mulheres pescadoras erveiras que produz, a partir de plantas, remédios artesanais para tratar empiricamente diversas enfermidades, dentre as quais o diabetes mellitus. As plantas são usadas em preparações monodrogas ou em associações. Dentre as várias espécies vegetais utilizadas com essa finalidade destaca-se: *Bauhinia monandra* que tem como sinonímia popular: pata-de-vaca.

Este trabalho relata a análise do remédio artesanal denominado “Tintura de Pata-de-vaca” (RATP) comercializado pelo Grupo de Mulheres Erva Vida, enfocando parâmetros farmacobotânicos, farmacognósticos e fitoquímicos; tais como: anatomia e a microquímica das folhas da espécie vegetal em estudo, reiterando deste modo, a identificação correta do material vegetal, importante para qualquer pesquisa com vegetais; e composição química, tendo os flavonoides do remédio artesanal aqueles presentes na preparação do RATP, como elemento de comparação.

Trabalhos anteriores desenvolvidos em nosso laboratório produziram conhecimento acerca de outras espécies também usadas como medicinais, tendo inclusive padronizado a tintura de *H. lancifolius* (Barros, 2013) isolando, identificando

e quantificando substâncias ativas e confirmando as alegações populares de uso de *E. plicata* e *M. lindleyana* (MALHEIROS, 2008; SILVA, 2012).

No âmbito da etnofarmácia o grupo de estudo vem documentando e registrando a história do Erva Vida há sete anos e já produziu trabalhos que traduzem a história, a organização e a atividade do Grupo de Mulheres Erva Vida. (MONTEIRO, 2012; FLOR, 2014).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

O uso de ervas medicinais é a mais antiga forma de cuidados com a saúde conhecida pela humanidade e tem sido empregado em todas as culturas ao longo da história desde quando os primeiros humanos, liderados pelo instinto e pela experiência, tratavam as doenças utilizando plantas reconhecendo que dependiam da natureza para uma vida saudável (BARNES *et al.*, 2007).

As plantas medicinais estão amplamente distribuídas por todo o mundo, sendo os países tropicais os que concentram a maior proporção. Estima-se que cerca de 25% dos medicamentos modernos são direta ou indiretamente, derivados de plantas (OMS, 2005).

O emprego terapêutico de plantas medicinais e produtos fitoterápicos no Brasil vem se consolidando nos últimos tempos, tornando-se assim, um ramo promissor para o mercado farmacêutico (ARAÚJO *et al.*, 2006) e o conhecimento de suas propriedades constitui uma importante ferramenta no desenvolvimento de novos fitoterápicos (ALBUQUERQUE e HANAZAKI, 2006). O desenvolvimento da ciência e da tecnologia está contribuindo para o estudo das plantas medicinais que estão tendo seu valor terapêutico pesquisado e ratificado, conseqüentemente observa-se a crescente utilização desses produtos recomendados por profissionais de saúde (ARNOUS *et al.*, 2005).

A associação de ervas medicinais em preparações é bastante utilizada tradicionalmente, no entanto, deve ser administrada com critério e sob orientação, isso porque muitas vezes as plantas apresentam substâncias com efeitos farmacológicos similares, que podem agir de forma sinérgica, potencializar ou minimizar suas atividades (YUNES, 2001 e ARNOUS *et al.*, 2005).

Devido ao aumento da população de idosos no Brasil, a demanda por terapias mais acessíveis para o tratamento de doenças crônico-degenerativas, representa um ganho importante nos investimentos humanos e financeiros na área da saúde. O uso de plantas medicinais pode se estabelecer como opção terapêutica, disponível aos profissionais que cuidam de pacientes diabéticos, considerando ser esse um tratamento de menor custo, cujos benefícios se somam aos da terapia convencional (BORGES *et al.*, 2008).

Entre as diversas patologias tratadas com plantas está o diabetes mellitus (DM). Até o início do século passado a única opção para o tratamento do diabetes eram as plantas medicinais, uma vez que os primeiros medicamentos com ação hipoglicêmica foram desenvolvidos a partir de 1921, quando a insulina foi empregada de forma terapêutica pela primeira vez por Banting e Best (RAW, 1948; ALLARCOON-AGUILAR et al, 2002; CARVALHO, 2005; ROCHA et al, 2006).

No Brasil, várias espécies vegetais são empregadas pelas populações para tratar os sintomas do diabetes (COSTA, 1977; PEREIRA, 1997; BARBOSA et al, 2001; VOLPATO et al., 2002; ELDER, 2004; SAXENA, VIKRAM, 2004; BARBOSA-FILHO et al, 2005; MENEZES et al, 2007) algumas têm sido objeto de investigação experimental, como exemplo a *Cissus verticillata*, popularmente conhecida como cipó-pucá, cujo extrato aquoso (BARBOSA et al, 2002) e fração metanólica (LINO et al, 2008) apresentaram ação hipoglicemiante em camundongos normoglicêmicos com diabete induzida.

Na medicina tradicional chinesa, 82 plantas medicinais têm sido usadas para o tratamento do diabete e suas complicações (LI et al., 2004). A maioria das plantas utilizadas como antidiabéticas, ao serem avaliadas farmacologicamente, demonstra ter atividade hipoglicemiante e possuir substâncias químicas que podem ser usadas como modelos para novos fármacos. Análises posteriores revelaram a grande variedade de mecanismos de ação que podem induzir o efeito hipoglicemiante, porém nem todos foram considerados terapeuticamente úteis (MARLES e FARNSWORTH, 1995; HUO et al., 2003; SAID et al., 2002).

Com isso, pode-se compreender porque inúmeras espécies vegetais são utilizadas no mundo para minimizar as consequências da doença. No Brasil cerca de 200 espécies são empregadas com essa finalidade, sendo que 52 foram estudadas experimentalmente e apresentaram atividades analgésica, anti-inflamatória e hipoglicemiante comprovadas (BARBOSA-FILHO et al., 2005).

Os mecanismos de ação pelos quais as plantas reduzem a hiperglicemia podem ser os seguintes: (1) aumento da liberação de insulina através da estimulação das células β -pancreáticas; (2) resistência aos hormônios que aumentam a glicemia; (3) aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; (4) diminuição da perda de glicogênio; (5) aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; (6) eliminação de radicais livres; (7) resistência à peroxidação de lipídeos; (8) correção da desordem metabólica causada em lipídeos e proteínas e (9) estímulo ao aumento

da microcirculação sanguínea no organismo (MARLES e FARNSWORTH, 1995; SAID *et al.*, 2002; VOLPATO *et al.*, 2002; HUO *et al.*, 2003; LI *et al.*, 2004).

2.2 Diabetes mellitus

O diabetes mellitus é definido como um grupo de alterações metabólicas, caracterizado por hiperglicemia resultante de disfunções na secreção e/ou na ação da insulina e o consequente transporte da glicose para dentro das células diminuindo sua concentração no sangue (HARPER, 1998; ROBBINS *et al.*, 1991). A hiperglicemia crônica do diabetes é associada com danos a longo prazo, disfunções e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, coração, vasos sanguíneos e nervos (RANG *et al.*, 2003). Segundo Maratos-Flier *et al.* (2002), a insulina é o principal hormônio controlador do metabolismo intermediário, exercendo ações sobre o fígado, os músculos e a gordura. Seu efeito geral é conservar as reservas energéticas ao facilitar a captação e o armazenamento de glicose, aminoácidos e lipídeos após a ingestão de alimentos. A insulina reduz de forma aguda a glicemia, em contrapartida, a ocorrência de um declínio nos níveis plasmáticos de insulina aumenta a glicemia.

Processos patogênicos severos estão envolvidos no desenvolvimento do diabetes decorrentes da destruição autoimune das células β -pancreáticas (secretoras de insulina) com consequente deficiência insulínica, ocasionando resistência (redução da sensibilidade) à sua ação. Independente da secreção insulínica e deficiências em sua ação existem outras causas que levam o indivíduo a desenvolver a doença, algumas ainda não estão bem definidas e com frequência são a causa primária de hiperglicemia (MARATOS-FLIER *et al.*, 2002).

Os sintomas da hiperglicemia incluem poliúria, polidipsia, perda ponderal, polifagia, distúrbios na visão e elevação do nível de glicose sérica o que resulta na excreção da glicose pela urina, também podem ocorrer algumas infecções associadas (ROBBINS *et al.*, 1991; SHOELSON, 1995; BERNE *et al.*, 2000; GODOY, 2000; SAID *et al.*, 2002). Como consequência do diabetes descompensado pode ocorrer a cetoacidose ou a síndrome não-cetótica hiperglicêmica hiperosmolar que é uma condição que eventualmente acontece em pessoas com níveis muito elevados de glicemia causados por uma grave falta de insulina (*American Diabetes Association - ADA*, 2006).

O diabetes mellitus tipo 2, acomete em média 90 a 95 % dos pacientes diabéticos (BRASIL, 2006). Há várias diferentes causas para essa forma da doença e, embora as etiologias específicas ainda não sejam totalmente conhecidas, sabe-se que não ocorre a destruição autoimune das células β -pancreáticas e os pacientes não têm outros precedentes associados.

A Sociedade Brasileira de Diabetes (2012) afirma que o diabetes mellitus é uma das doenças mais importantes que atingem a população mundial e que o número de indivíduos acometidos reflete a magnitude do problema, por essa razão a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem incentivado nas últimas décadas o estudo de plantas medicinais para o tratamento dessa patologia, visto que, de acordo com estimativas publicadas para diferentes regiões do mundo 135 milhões apresentavam a doença em 1995, 240 milhões em 2005 e há projeção para atingir 366 milhões em 2030, sendo que dois terços habitarão países em desenvolvimento como mostra a Figura 1. Só no Brasil são cerca de 12 milhões de portadores dessa enfermidade.

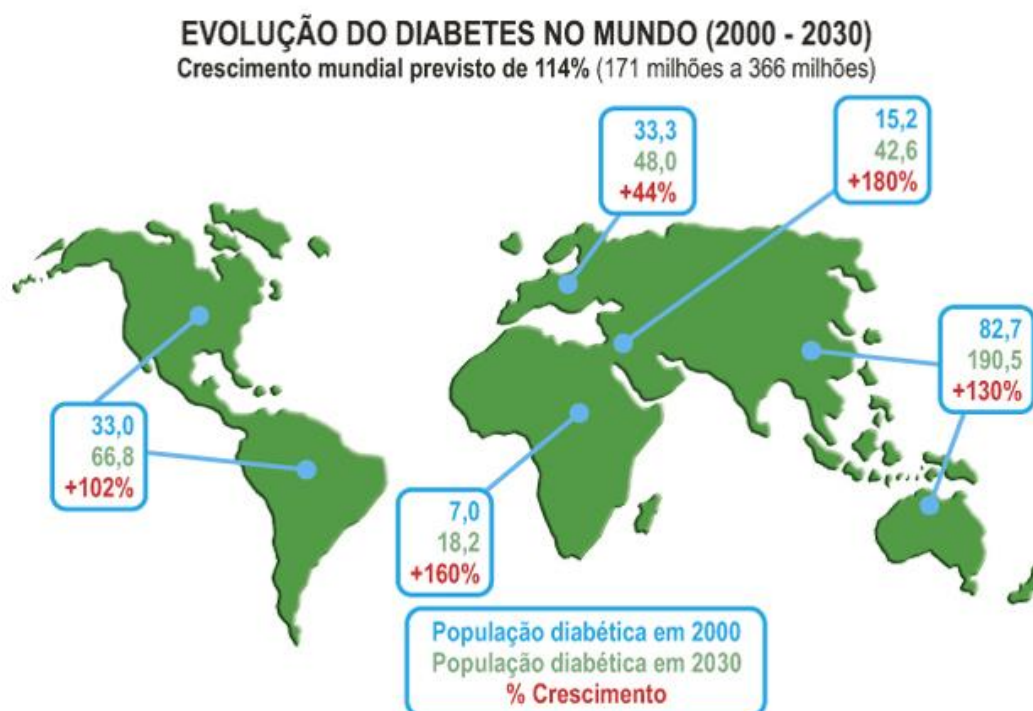


Figura 1 - Evolução do diabetes no mundo (2000 a 2030). Programa de diabetes. Fatos e figuras. Dados de prevalência. Fonte: Organização Mundial de Saúde (2003).

2.3 Etnofarmácia no distrito de Marudá – Grupo de mulheres Erva Vida

No distrito de Marudá, município de Marapanim, no nordeste do Pará, existe o grupo Erva Vida (Figura 2), constituído por mulheres que se organizaram e passaram a se reunir e trocar experiências sobre a utilização de remédios naturais, até partirem para a produção e venda deles, o que veio a se constituir como um complemento da renda familiar. As mulheres pescadoras-erveiras produzem uma variedade de remédios a partir de plantas medicinais da região e de algumas adquiridas em Belém, capital do estado. A associação possui uma pequena área para cultivo, um laboratório simples e uma loja onde são comercializados os remédios artesanais além de artesanatos, motivo primeiro da reunião dessas mulheres. (MONTEIRO *et al.*, 2012).



Figura 2- Sede do Grupo de Mulheres Erva Vida, em Marudá PA. Fonte: LAFQ

A prática da fitoterapia popular dentre as mulheres pescadoras-erveiras de Marudá pode ser descrita pela Etnofarmácia, que segundo Barbosa *et al* (2011), é tecnologia social que trabalha uma área de aplicação comum tanto à Etnologia quanto à Ciência Farmacêutica e se ocupa em estudar as práticas tradicionais e populares voltadas para a conservação e a recuperação da saúde utilizando plantas medicinais. Emprega as descrições etnográficas sobre práticas e crenças, usualmente originadas de povos indígenas ou considerados primitivos, com as quais uma cultura específica previne e trata as doenças, além de estudos comparativos dessas práticas. A Etnofarmácia então, é um campo da ciência que inclui objetos de estudos tanto para as Ciências Sociais, como a Biologia e a Química além da Ciência Farmacêutica.

Segundo Monteiro *et al* (2012), a fitoterapia popular em Marudá possui papel importante no cuidado com a saúde da população local, os remédios artesanais do Erva Vida são uma opção para o tratamento de doenças corriqueiras e muitas vezes até para casos mais sérios. As mulheres do grupo, não abrem mão de tê-los em suas

próprias farmácias caseiras, por confiarem no conhecimento repassado a elas ao longo de gerações e afirmam que “sempre usam remédio natural e só recorrem aos de farmácia caso o problema não seja solucionado com os caseiros”. As informações colhidas na comunidade enfatizam as alegações de uso das plantas associadas a determinados sintomas de adoecimento.

A prospecção de plantas medicinais utilizadas como recurso terapêutico pela população quando realizada no âmbito das Ciências Farmacêuticas, combinando elementos da Assistência Farmacêutica com elementos da cultura popular e o conhecimento associado aos recursos naturais, caracteriza-se como levantamento etnofarmacêutico cujo foco inclui a preparação do remédio e a sua relação com o usuário, buscando identificar problemas relacionados à utilização das plantas e orientar para o uso seguro e eficaz desses recursos terapêuticos (BARBOSA *et al*, 2011).

De acordo com o estudo realizado por Monteiro *et al* (2012), foi verificado pela equipe do PSF Marudá que as doenças classificadas como endócrinas, nutricionais ou metabólicas estão entre as que ocorreram com mais frequência no distrito no ano de 2010. Dentre essas enfermidades está o diabetes mellitus, que é tratado empiricamente na localidade com a utilização de várias espécies vegetais, sendo que as mais citadas foram *Bauhinia monandra* Kurz, que é matéria prima utilizada na preparação do remédio artesanal denominado “Tintura de pata de vaca”; *Chrysobalanus icaco* L. e *Syzygium cumini* (L.) Skeels.

2.4. *Bauhinia monandra* Kurz

A família Leguminosae é uma das mais importantes no reino vegetal, com abundante número de gêneros e espécies distribuídos nas suas três subfamílias, Mimosoideae, Papilionoideae e Caesalpinioideae (Engler, 1964). Nesta última está presente o gênero *Bauhinia*, encontrado principalmente em áreas tropicais, constituído por cerca de 250 espécies (Cronquist, 1981) sendo que, segundo Vaz & Tozzi (2005) 200 delas são brasileiras, comumente conhecidas nas diversas regiões do Brasil como pata-de-vaca, unha-de-vaca, unha-de-boi, miroró, unha-de-anta, mororó, casco-de-vaca, pata-de-burro, entre outras.

A espécie *Bauhinia monandra* Kurz, conhecida popularmente na Amazônia como "pata-de-vaca", possui grande valor econômico, e é utilizada com fins ornamental, forrageiro e principalmente medicinal (VIEIRA, 1992; MARTINS *et al.*, 1995; FERNANDES *et al.*, 2012). É uma árvore de pequeno porte, mas pode atingir até 9,0 metros de altura, possui pequenos ramos pendentes, folhas alternadas compostas por dois folíolos unidos pela base, glabras (sem pelos) e ovais de tamanhos variados, divididas no centro da metade para cima e provida de acúleos gêmeos na axila foliar. O fruto é um legume reto (Figura 3), ligeiramente encurvado nas extremidades, simples, seco e de deiscência elástica. Quando maduro possui margens de coloração castanha, quase negra e no centro, sob os núcleos seminíferos, castanha escura; quando imaturo apresenta-se de cor verde (ILKIU-BORGES e MENDONÇA, 2009).

A *B. monandra* Kurz apresenta flores róseas ou brancas que possuem apenas um estame, sendo essa a característica que nomeou a espécie (Figura 4). A *B. forticata* apresenta flores brancas e as outras espécies de *Bauhinia* apresentam flores brancas, róseas ou amarelas de tamanhos variados, são compostas por pétalas com tamanho semelhante ou menor que o cálice (SILVA e CHECHINEL FILHO, 2002).



Figura 3 - Ramos com frutos (legume) de *Bauhinia monandra* Kurz.

Fonte: <http://luirig.altervista.org/schedenam/fnam.php?taxon=Bauhinia+monandra>



Figura 4 - Ramos floridos (A) e folha (B) de *Bauhinia monandra* Kurz.

Fonte: LAFQ.

Os índios brasileiros, bem como os nativos de outros países sul-americanos, utilizavam as folhas do vegetal como cicatrizante, empregando-as em banhos para feridas ou aplicando-as diretamente sobre os ferimentos. Usavam-nas também como diuréticas, digestivas e expectorantes. As atividades analgésica e anti-inflamatória também foram mencionadas (ALONSO, 2000).

Na medicina popular, a infusão das folhas desta espécie é utilizada predominantemente no tratamento do diabetes mellitus, sendo ainda empregada como agente diurético, tônico e depurativo (PIZZOLATTI *et al.*, 2003).

Na literatura científica, o gênero *Bauhinia* é frequentemente mencionado devido à sua ação hipoglicemiante, já que suas folhas são amplamente utilizadas na medicina popular principalmente sob a forma de chá, por possuírem ações diurética e antidiabética. São empregadas como recurso terapêutico na medicina popular em várias regiões do mundo, incluindo África, Ásia e Américas Central e do Sul (SILVA e CHECHINEL FILHO, 2002; LAMEIRA e PINTO, 2008).

As principais atividades farmacológicas estudadas foram: antidiabética (*B. divaricata*, *B. candicans*, *B. monandra*, *B. variegata*, *B. forficata*, *B. cheilantha* e *B. megalandra*); antimicrobiana (*B. splendens*, *B. manca*, *B. rufescens* e *B. forficata*); anti-inflamatória (*B. forficata* e *B. guianensis*); e analgésica (*B. splendens*) (SILVA e CECHINEL FILHO, 2002). Muitos compostos já foram identificados no gênero, principalmente o grupo dos flavonoides, seguidos por terpenoides e esteroides (SILVA e CECHINEL FILHO, 2002).

Argolo *et al* (2004), demonstram que os extratos clorofórmicos e acetato de etila das folhas de *B. monandra* Kurz contém compostos com significantes efeitos antioxidantes (flavonoides e esteroides). Já o extrato etanólico apresentou atividade hipoglicemiante em ratos com diabetes tipo 2 induzida e acredita-se que essa atividade esteja relacionada com a forte ação antioxidante demonstrada nos experimentos. Fernandes *et al.* (2012) detectaram a presença de rutina no extrato hidroetanólico das folhas de *B. monandra*.

Bauhinia forficata Link é a espécie que apresenta maior número de estudos referentes à atividade hipoglicemiante. Seus principais constituintes químicos são esteróis, flavonoides (canferol, rutina e quercetina), terpenoides, alcaloides, colina,

trigonelina, cumarina, ácidos orgânicos e sais minerais (SILVA e CHECHINEL, 2002; LAMEIRA e PINTO, 2008).

Vários estudos pré-clínicos evidenciam a atividade hipoglicemiante das folhas de *B. forficata*, atribuindo-a aos glicosídeos flavonoídicos, canferólicos e quercetínicos, e, em particular, ao 3,7-di-O- α -L-ramnopiranosilcanferol (canferitrina), marcador químico presente apenas nas folhas (PEPATO *et al.*, 2002; JORGE *et al.*, 2004; SOUZA *et al.*, 2004; VASCONCELOS *et al.*, 2004; CAZAROLLI *et al.*, 2006; MENEZES *et al.*, 2007; ENGEL *et al.*, 2008; DA CUNHA *et al.*, 2010).

2.5 Metabolismo vegetal

O conjunto de processos e substâncias químicas que ocorrem no interior das células de um organismo vivo denomina-se metabolismo e pode se dividir em primário e secundário, dependendo da função desempenhada por ele. Metabolismo primário é aquele que reúne processos e substâncias essenciais à vida e à reprodução do organismo, tais como a respiração, a fotossíntese e o transporte de solutos, e carboidratos, lipídeos, ácidos nucleicos, entre outros. No metabolismo secundário, são sintetizadas as substâncias que, em princípio, não possuem função essencial, porém são responsáveis pela proteção do vegetal contra diversos fatores. Por isso o metabolismo secundário exerce um papel importante na interação química das plantas com o meio ambiente, portanto sua biossíntese é frequentemente afetada pelas condições ambientais (DI STASI, 1996; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Dentre os fatores ambientais que influenciam a composição dos metabólitos secundários estão a sazonalidade, ritmo circadiano, fase de desenvolvimento da planta, disponibilidade hídrica, nutrientes, radiação ultravioleta, poluição, altitude e indução por estímulos mecânicos ou ataque de patógenos. (GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: terpenos, compostos fenólicos e alcaloides, cujas vias biossintéticas estão representadas na Figura 8.

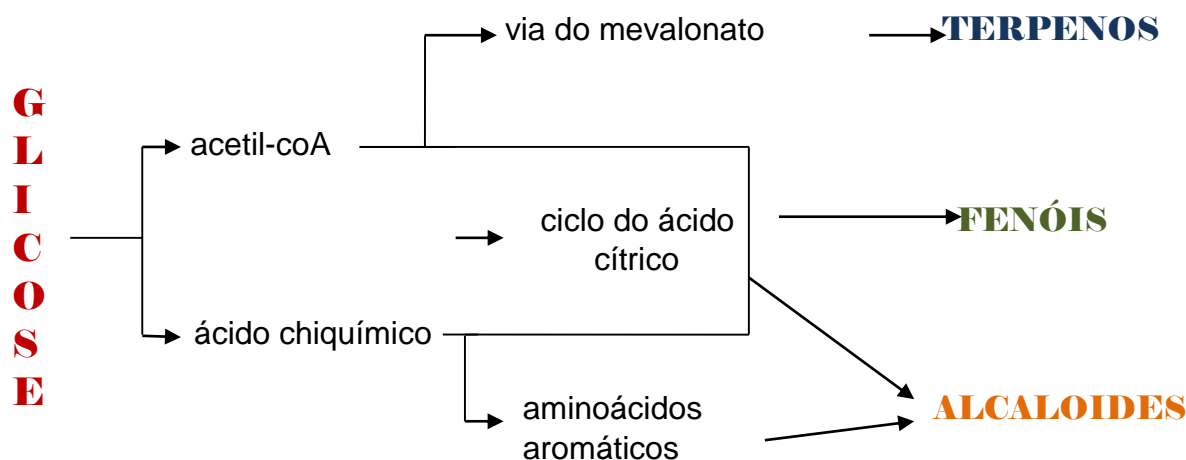


Figura 5 - Esquema mostrando as principais vias do metabolismo secundário (Adaptado de: SIMÕES *et al*, 1999; PERES, 2007).

2.6 Compostos fenólicos

Parte dos compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico. São responsáveis pelo sabor, odor e coloração de diversos vegetais. Essa classe de substâncias é responsável pela proteção das plantas contra os raios ultravioleta, insetos, fungos, vírus e bactérias. A proteção contra a fotodestruição proporcionada por esses compostos é devida à sua propriedade de absorver ou dissipar a energia solar, principalmente devido à conjugação de suas ligações duplas. Quimicamente são substâncias que possuem pelo menos um anel aromático no qual, ao menos, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila (PERES, 2007; GOBBO-NETO e LOPES, 2007).

A biossíntese dos compostos fenólicos ocorre a partir da combinação de uma unidade do ácido chiquímico e uma ou mais unidades de acetato ou derivados deste.

O ácido chiquímico é formado pela condensação aldólica de dois metabólitos da glicose, eritrose-4-fosfato e o fosfoenolpiruvato (SIMÕES *et al*, 1999).

2.6.1 FLAVONOIDES

Em 1930, o bioquímico húngaro e prêmio Nobel, Albert Szent-György, descobriu os flavonoides quando extraiu a citrina da casca do limão e percebeu nessa

substância a capacidade de regulação da permeabilidade dos capilares. Esta classe de compostos participa da fotossíntese na fase dependente de luz, durante a qual catalisam o transporte de elétrons. Desempenham um papel fundamental no organismo humano atuando na proteção contra agentes oxidantes como, por exemplo, os raios ultravioleta, a poluição ambiental, substâncias químicas presentes nos alimentos, entre outros; também atuam como agentes terapêuticos em várias patologias (SILVA, 2007). Os flavonoides formam um grupo de pigmentos naturais, amplamente distribuídos em angiospermas e gimnospermas. Estão presentes em frutas, raízes, folhas e caules. São atribuídas aos flavonoides diversas atividades biológicas, tais como cardioprotetora e hipoglicemiante. Foi comprovado que, dependendo de sua concentração no vegetal, alguns flavonoides como a quercetina aumentam a liberação de insulina das ilhotas de Langerhans (KOSHY, VIJAYSLAKSHMI *et al.*, 2001).

Os flavonoides possuem uma unidade básica de 15 carbonos que consiste de dois anéis aromáticos hidroxilados (anel A e B) unidos por três carbonos que formam um sistema fenil benzopirano, com um anel heterocíclico (anel C), como pode ser visto na Figura 6.

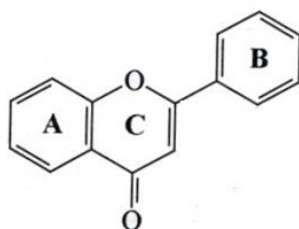


Figura 6 - Estrutura química básica dos flavonoides (Adaptado de: ÂNGELO e JORGE, 2007).

Variações na constituição do anel C resultam em importantes classes de flavonoides, como flavonóis, flavonas, flavanonas, flavanóis (ou catequinas), isoflavonas e antocianidinas (Figura 7). Substituições dos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada classe de flavonoides (ANGELO; JORGE, 2007).

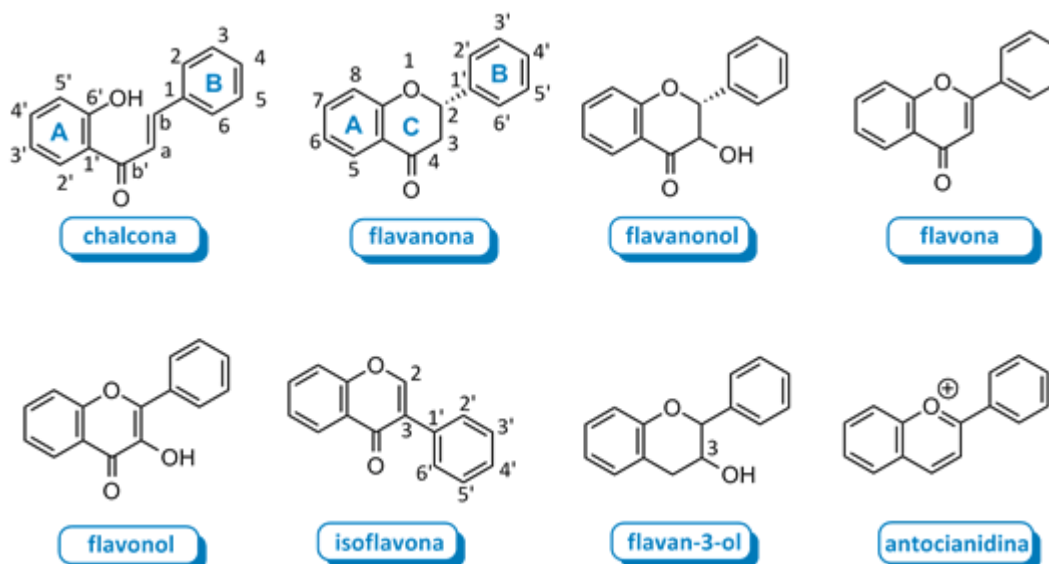


Figura 7 - Estruturas das classes básicas de flavonoides (Fonte: COUTINHO *et al*, 2009).

Por possuírem estrutura ideal para o sequestro de radicais livres, os flavonoides possuem atividade antioxidante. A ação pode ser determinada por cinco fatores: reatividade como agente doador de H^+ e elétrons; estabilidade do radical flavonoil formado; reatividade frente a outros antioxidantes; capacidade de quelar metais de transição, solubilidade e interação com membranas. De modo geral, quanto maior o número de hidroxilas, menor a atividade como agente doador de H^+ e elétrons. Flavonoides monohidroxilados apresentam atividade muito baixa, por exemplo a 5-hidroxi-flavona, que tem atividade não detectável. Entre os flavonoides dihidroxilados destacam-se os que possuem o sistema catecol ($3',4'$ - dihidroxi) no anel B. Os flavonoides com múltiplas hidroxilas como a quercetina, miricetina, luteolina, rutina, entre outros, possuem forte atividade antioxidante (BARREIROS *et al.*, 2006).

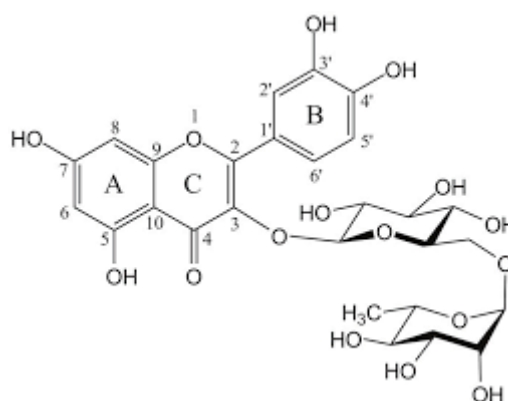


Figura 8: Estrutura química da rutina. (Fonte: <http://www.liberato.com.br>)

A rutina é um flavonoide pertencente à subclasse dos flavonóis que se destaca devido às suas várias atividades farmacológicas, dentre elas, a ação hipoglicemiante. É encontrada em diversas fontes alimentares, bebidas e plantas (FERNANDES *et al.*, 2012). Foi uma das substâncias detectadas nas amostras analisadas no presente estudo e sua estrutura está representada na figura 8.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

A partir das análises farmacognóstica e fitoquímica do remédio artesanal “Tintura de Pata-de-vaca” produzido pelo Grupo de Mulheres Erva Vida em Marudá-PA e de derivados da *Bauhinia monandra* Kurz, usada na sua preparação, valorizar o saber local e qualificar o remédio e a espécie vegetal, como potencial fitoterápico oficial.

3.2 Objetivos específicos

- Descrever as características morfoanatômicas e a microquímica das folhas de *Bauhinia monandra* Kurz,
- Realizar a abordagem físico-química da espécie vegetal;
- Delinear o perfil fitoquímico do extrato etanólico das folhas da espécie vegetal e do remédio artesanal;
- Realizar o controle de qualidade microbiológico do remédio artesanal;
- Traçar o perfil cromatográfico por CLAE-DAD do extrato hidroetanólico das folhas de *Bauhinia monandra* Kurz e do remédio artesanal “Tintura de Pata-de-vaca”;
- Caracterizar a presença de flavonoides na espécie vegetal em estudo e no remédio artesanal;
- Comparar os perfis do extrato hidroetanólico de *Bauhinia monandra* Kurz e do remédio artesanal “Tintura de Pata-de-vaca” em relação a flavonoides.

4 MATERIAL E MÉTODOS

FLUXO DAS ATIVIDADES

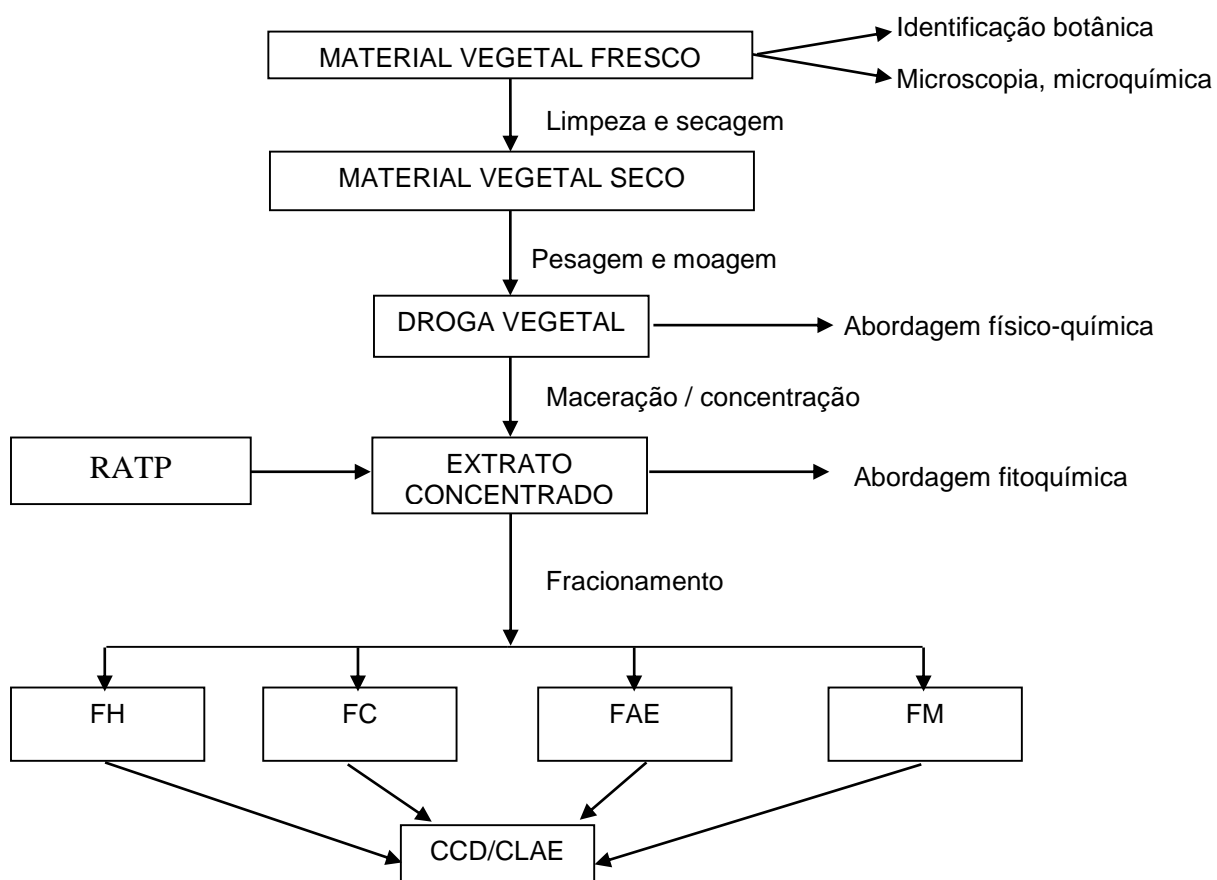


Figura 9 - Fluxograma das atividades relatadas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 MATÉRIA PRIMA VEGETAL

Para este trabalho foram utilizadas folhas jovens e adultas de *Bauhinia monandra* Kurz. O material vegetal foi obtido com o Grupo de Mulheres Erva Vida.

Foram obtidos aproximadamente 1,2 Kg de ramos completos com folhas, flores e frutos de *B. monandra*.

4.1.2 REMÉDIO ARTESANAL “TINTURA DE PATA-DE-VACA” (RATP)

O remédio artesanal foi preparado e fornecido pelo Grupo de Mulheres Erva Vida, sendo utilizado o volume de 1L para as análises.

4.1.3 SOLVENTES, REAGENTES E SOLUÇÕES

Foram utilizados: acetato de etila, ácido clorídrico concentrado, ácido clorídrico 5 %, peróxido de hidrogênio, água ultrapura, álcool etílico absoluto 96° GL, álcool etílico a 70 %, azul de toluidina 1 %, n-butanol, clorofórmio, diclorometano, dimetilsulfóxido (DMSO), éter etílico, hexano, magnésio em raspas, metanol, etanol, reativo de Pascov, reativo de Fehling A e B, reativo de Bouchardat, reativo de Dragendorff, reativo de Mayer, reativo de Kedde, “*Natural products-polyethylene glycol reagent*” (NP/PEG), solução de anisaldeído, solução de hidrodo de amnio, lugol, solução aquosa de ninhidrina a 1 %, solução alcoólica de cloreto férrico a 1 %, solução aquosa de vanilina a 1 %, rutina hidratada R5143 Sigma-Aldrich.

Todos os solventes utilizados possuem grau de pureza P.A., de marcas disponíveis no mercado nacional.

4.1.4 EQUIPAMENTOS

Os seguintes equipamentos foram utilizados: balança analítica modelo BK 500 (GEHAKA); alcometro de Gay Lussac; balança analítica FA2104N (Bioprecisa), agitador eletromagnético para peneiras (Bertel), forno mufla modelo 355I (ENGRO), analisador de umidade por infravermelho (GEHAKA IV 2000), fotomicroscópio modelo ZEISS Axiolab acoplado a câmera digital do modelo Moticam 2300 3.0 MPixel Live

Resolution, cromatógrafo Agilent 1260 Infinity equipado com Diode Array Detector (DAD) e ao Evaporator Lights Scattering Detector (ELSD), fabricado por Agilent Technologies.

4.2 Métodos

As atividades foram desenvolvidas no Laboratório de Cromatografia e Espectrometria de Massas (LACREM) e no Laboratório de Pesquisa e Desenvolvimento Farmacotécnico, ambos da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pará e estão representadas no fluxograma mostrado na figura 9 (p. 30).

4.2.1 PROCESSAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

As folhas frescas da espécie investigada neste trabalho foram processadas separando-as dos galhos, descartando as que estavam deterioradas, manchadas e com sinal de ataque por insetos ou fungos e foram, em seguida, lavadas com água corrente para remoção de sujeiras e também com álcool etílico a 70 %, para desinfecção e para retardar o metabolismo (KRAUS, 1997). Após esta etapa, o material vegetal foi seco por três dias a temperatura ambiente sobre papel absorvente. Feita essa desidratação prévia, o material vegetal foi colocado em estufa de ar circulante a uma temperatura média de 40 °C (± 5 °C) por um período de sete dias. As folhas secas retiradas da estufa foram trituradas em moinho de facas e assim obteve-se a droga vegetal.

A partir do material coletado também foram confeccionadas exsiccatas encaminhadas para identificação botânica no Instituto Agrônomo do Norte (IAN), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) em Belém-PA.

4.2.2 ANATOMIA E MICROQUÍMICA VEGETAL

Folhas maduras foram separadas e tiveram o limbo dividido em três regiões: terço superior, mediano e inferior a partir do pedúnculo. Os terços superior e inferior foram desprezados e nos terços medianos promoveu-se uma subamostragem, com aproximadamente 9,0mm² de área (KRAUS, 1997).

Para caracterização anatômica, foram utilizadas folhas inteiras e frescas que foram completamente expandidas, posteriormente hidratadas em água destilada e seccionadas nas regiões do limbo, da nervura central e da margem. Os cortes do material vegetal foram feitos à mão livre usando lâmina de aço, no sentido transversal e colocados em água destilada para, posteriormente, serem clarificados com hipoclorito de sódio 20 %. Os cortes foram corados com azul-de-Astra seguido de fucsina básica, montados em lâminas com glicerina a 50 %, cobertos com lamínula e vedados com esmalte incolor (KRAUS, 1997). Foram obtidas fotomicrografias para ilustração das características anatômicas.

Para os testes microquímicos, os cortes foram clarificados com hipoclorito de sódio a 50 % e lavados com água destilada. Em seguida, foram aplicados sobre eles os reagentes referentes a cada teste (quadro 1), sendo o excesso retirado com papel de filtro finalizando a montagem da lâmina com glicerina 50% cobrindo-se com lamínula e vedando com esmalte incolor, segundo técnica descrita por Kraus (1997).

Quadro 1 - Reagentes utilizados nos testes microquímicos

METABÓLITO	REAGENTE	AUTOR
Alcaloides	Dragendorff	Costa, 1982
Amido	Lugol	Kraus & Arduin, 1997
Antraquinonas	KOH 5%	Costa, 1982
Flavonoides	KOH 5%	Costa, 1982
Compostos Fenólicos	Cloreto Férrico 10%	Johansen, 1940

4.2.3 ABORDAGEM FÍSICO-QUÍMICA DA DROGA VEGETAL

4.2.3.1 Perda por dessecação do material vegetal ou teor de umidade (Farmacopeia Brasileira 5ª ed, 2010).

A amostra foi submetida à secagem direta por radiação infravermelha. O procedimento realizado é um método oficial que diminui o tempo de análise e fornece resultado imediato, visto que o equipamento é composto de uma balança com aquecimento por radiação infravermelha e um programa que processa os dados e emite o resultado.

Foram pesados 2,0 g de droga vegetal e distribuídos de maneira uniforme no coletor de alumínio. Para determinação programou-se o tempo de 5 minutos e 105 °C

a temperatura de secagem. O resultado em teor percentual de umidade foi calculado e mostrado no display do aparelho.

4.2.3.2 Distribuição granulométrica da droga vegetal (Farmacopeia Brasileira 5ª ed, 2010).

Uma alíquota de 25 g de droga vegetal foi pesada e transferida para o topo de um conjunto de tamises com as seguintes aberturas de malha 1.700, 710, 355, 250, 180 e 125 µm; distribuindo-se uniformemente o pó. O conjunto de tamises foi tampado e agitado por 15 minutos com vibração alta. Após este tempo, cada tamis e o coletor foram pesados e foi calculado o percentual de pó retido em cada recipiente. A análise foi realizada em triplicata.

4.2.3.3 Determinação de cinzas (Farmacopeia Brasileira 5ª ed, 2010).

Para essa análise, 3,0 g da droga vegetal foram pesados e transferidos para cadinhos de porcelana previamente calcinados, resfriados e pesados. As amostras foram distribuídas uniformemente nos cadinhos e incineradas a 450 °C em mufla por 2 h. Após resfriamento em dessecador, as amostras foram pesadas em balança analítica. O procedimento foi repetido a cada 2 horas até a obtenção de peso constante. A porcentagem de cinzas foi calculada em relação à droga vegetal usada no processo.

4.2.4 PREPARAÇÃO DAS TINTURAS E OBTENÇÃO DOS EXTRATOS CONCENTRADOS.

Como processo extrativo para a preparo da tintura foi utilizada a maceração. Aproximadamente 250 g de droga vegetal foram macerados por 7 dias em frasco de vidro, devidamente fechado, usando-se como líquido extrator etanol 70 % na proporção 1:5 (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Durante todo o processo de maceração, o material esteve ao abrigo da luz, em temperatura ambiente e foi periodicamente agitado. Após 7 dias, a tintura foi filtrada e concentrada em evaporador rotativo sob pressão reduzida, obtendo-se o extrato hidroetanólico concentrado (EHC).

O remédio artesanal “Tintura de Pata-de vaca” (RATPV) foi preparado pelas mulheres erveiras do Grupo Erva Vida, utilizando 200 g de folhas secas trituradas para 1 L de aguardente de cana, a preparação foi macerada por 15 dias e mantida em ambiente escuro sendo periodicamente agitada. Após essa etapa, foram adicionados 500 mL de água potável, a mistura foi filtrada e envasada em frascos. Após este processo, 1 L do remédio artesanal foi concentrado em evaporador rotativo sob baixa pressão, obtendo-se o extrato concentrado (EC).

4.2.5 CONTROLE DE QUALIDADE MICROBIOLÓGICO DO RATPV

O controle de qualidade microbiológico foi realizado usando-se a metodologia adaptada por PINTO et al (2010). No procedimento, foi inoculado assepticamente 1,0 mL da RATPV em tubos de ensaio contendo 9,0 mL de caldo lactose. Em seguida, foram realizadas mais duas diluições (1:100 e 1:1000) obtendo-se assim 3 tubos de ensaio identificados como 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . Após a homogeneização, 0,1 mL de cada diluição foi semeado em placas de Petri estéreis previamente preparadas com ágar Sabouraud e ágar aspergillus para o crescimento de fungos e leveduras e ágar nutriente para bactérias. A semeadura em superfície foi realizada em triplicata e homogeneizada com alça de Drigalski. As placas foram incubadas a 25°C por 7 dias em estufa de BOD para fungos e 35°C por 2 dias em estufa bacteriológica.

4.2.6 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA PRELIMINAR

Segundo o Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais (BARBOSA *et al.*, 2001), realizou-se a prospecção fitoquímica preliminar em EHC e no RATPV concentrado. As seguintes classes metabólicas foram pesquisadas: saponina, ácidos orgânicos, esteroides e triterpenos, azulenos, glicosídeos cardíacos, flavonoides, derivados de benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas, sesquiterpenolactonas, purinas, alcaloides, açúcares redutores, polissacarídeos, fenóis e taninos, proteínas e aminoácidos e catequinas.

4.2.7 FRACIONAMENTO

Dez gramas do EHC, contendo substâncias de variadas polaridades, foi submetido à partição sólido-líquido, com solventes de polaridade crescente: hexano, clorofórmio, acetato de etila e metanol que, após a evaporação, resultaram nas frações hexânica (FH), clorofórmica (FC), acetato de etila (FAE), metanólica (FM) e também na fração residual (FR).

4.2.8 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Para análise por cromatografia em camada delgada (CCD), foram utilizados dois tipos de placas cromatográficas: manufaturadas e as industrializadas. As placas manufaturadas, utilizadas para as análises preliminares, foram preparadas aplicando-se uma suspensão de gel de sílica 60 (*MERCK*®) em água destilada, na proporção de 1:2 (p/v) sobre placas de vidro de dimensões 10,0 x 5,0 cm, obtendo-se 0,25 mm de espessura com auxílio de um espalhador manual. Após o preparo, as placas foram deixadas em repouso por cerca de seis horas à temperatura ambiente e depois ativadas em estufa a 120°C por aproximadamente 30 minutos.

As placas padronizadas, utilizadas para documentação, são de gel de sílica 60 F254 com indicador de fluorescência (*MERCK*®), espessura da camada de 0,2 mm e tamanho da placa 20,0 x 20,0 cm.

A visualização das bandas foi realizada através de métodos físicos (luz visível e luz ultravioleta nos comprimentos de onda de 254 e 365 nm e por derivatização com os seguintes reveladores: solução de anisaldeído sulfúrico (reagente geral), solução de cloreto férrico e NP/PEG (reagentes específicos).

As amostras (EHC e frações) e RATPV concentrado foram aplicadas sobre as cromatoplasmas na forma de solução metanólica na concentração de 10 mg/ mL, e eluídas em cubas cromatográficas saturadas com a fase móvel de escolha. Foram empregados os seguintes eluentes: hexano/acetona, nas proporções (80:20), (75:25), (70:30); clorofórmio/metanol (90:10) e clorofórmio/metanol/água (75:20:5) e acetato de etila/ácido acético glacial/ácido fórmico/água (100:11:11:26) (WAGNER e BLADT, 2001).

4.2.9 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

EHC foi analisado por CLAE na concentração de 1mg/mL, assim como a rutina, substância padrão, e RATPV foi analisado na concentração original. Para localizar o pico correspondente a rutina, foi realizada a co-injeção de 100µg do padrão rutina (Sigma-Aldrich®) dissolvidos em 1mL do RATPV.

As análises foram realizadas em um cromatógrafo líquido com injeção manual de 20 µL. O monitoramento da análise foi feito a 257 nm. Foi utilizada uma coluna de fase reversa Agilent C18, 150 mm x 4.6; e diâmetro de partícula de 5 µm. A fase móvel foi constituída de metanol (A) e água neutra (B), preparada diariamente, filtrada e degaseificada por ultrassom antes do uso. A composição do eluente, em gradiente, inicia-se com 30 % de B, 40% de B em 10 minutos, 40% de B em 20 minutos, 100% de B em 60 minutos e após 5 minutos retornou à condição inicial, tendo fluxo de 1 mL/min (tabela 1). A coluna esteve a 26 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante a análise e o volume de injeção foi de 20 µL. O DAD foi utilizado para registro dos cromatogramas e dos espectros UV.

Tabela 1: Variação da composição do eluente em relação ao tempo de análise

Tempo (min)	% A	%B
0	70	30
10	60	40
20	60	40
60	0	100
65	70	30

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Identificação botânica

De acordo com o laudo emitido pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, a espécie vegetal foi identificada como: *Bauhinia monandra* Kurz (anexo I). A exsicata foi depositada no herbário do Instituto Agrônomo do Norte (IAN) sob o número 189292.

5.2 Descrição anatômica

Borges *et al.* (2009) descreve a espécie com lâmina foliar bifoliolada, simétrica e de consistência herbácea, com superfícies adaxial glabra e abaxial pilosa. Ambas as faces da folha são recobertas por cera epicuticular em forma de placas que se agrupam formando estruturas estreladas. A cera é mais conspícua na face abaxial. A face adaxial da epiderme é totalmente desprovida de tricomas, enquanto que na abaxial ocorrem tricomas tectores alongados de diversos tamanhos, distribuídos sobre todo o limbo e com maior freqüência sobre as nervuras. O padrão de nervação é do tipo actinódromo. Cada folíolo possui cinco nervuras primárias, que saem radialmente do mesmo ponto e convergem nos bordos para formar a nervura marginal. A nervura da região de fusão dos folíolos é considerada como nervura central da folha e apresenta menor calibre em relação às nervuras primárias do folíolo. As nervuras secundárias são curvadas e conectam-se às primárias (figura 10).

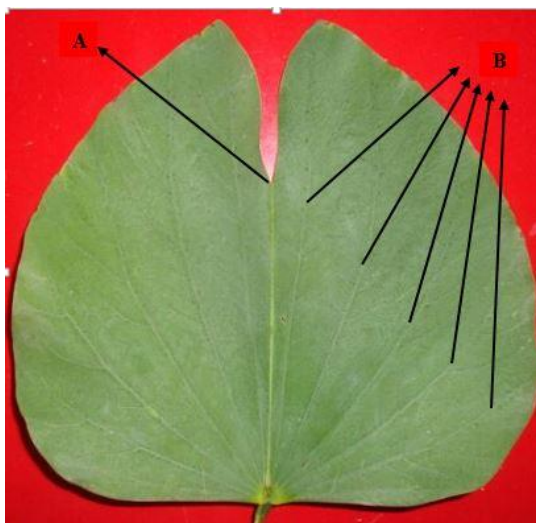


Figura 10- Face adaxial da folha de *B. monandra* mostrando o padrão de nervação. Nervura central (A), nervuras primárias (B). Fonte: LAFQ.

Na região da nervura central, a secção transversal da folha mostra células epidérmicas arredondadas com tamanho reduzido, em relação ao restante do limbo, muitas dessas, contendo compostos fenólicos. Camadas de colênquima estão presentes nos ângulos, entre o mesofilo e a nervura, internamente à epiderme da face adaxial e em faixa descontínua na face abaxial. A figura 11 mostra que a maior parte da região cortical da nervura central é parenquimática, composta de células arredondadas com alguns idioblastos fenólicos. Uma bainha bastante extensa de fibras envolve completamente o feixe vascular, sendo seguida internamente, por parênquima. O xilema e floema estão dispostos em arco com o xilema voltado para a face adaxial e o floema para a abaxial. O parênquima vascular também possui idioblastos fenólicos. Grãos de amido são encontrados em abundância nas células do mesofilo, envolvidos por membranas proteicas no interior das células parenquimáticas (figura 11).

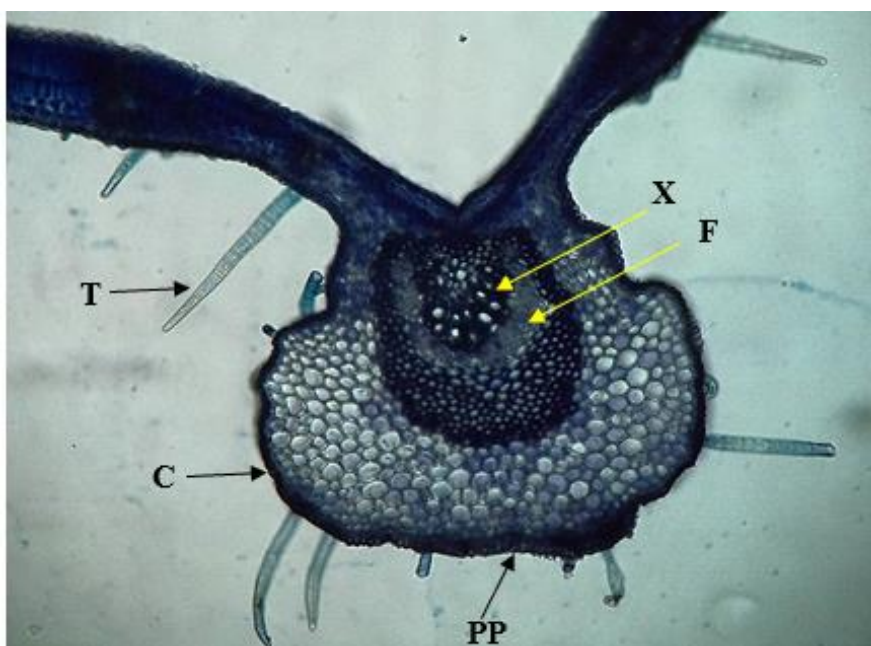


Figura 11: Fotomicroscopia da folha de *Bauhinia monandra* Kurz, corte transversal. Nervura central: (C) cutícula; (PP) parênquima paliçádico; (X) xilema; (F) floema; (T) tricoma tector.

5.3 Análise microquímica das folhas

O reagente Dragendorff em contato com os cortes clarificados em hipoclorito de sódio conferiu cor castanha às células parenquimáticas dos tecidos paliçádico e lacunoso, destacando-se a coloração intensa do primeiro tecido, além de corar as células parenquimáticas da nervura central, este tipo de reação indica a presença de

alcaloides nesses tecidos (figura 12 A). De acordo com Domínguez (1973), os alcaloides em contato com essa substância adquirem cor laranja ou marrom, já que este é um grupo heterogêneo e fisiologicamente ativo e sua variabilidade possui considerável valor taxonômico.

O KOH 5% reagiu corando em violeta o parênquima paliçádico (figura 12C). Domínguez (1973) relata que a cor violeta ou vermelha indica a presença de compostos antraquinônicos, já os flavonoides coram-se de amarelo alaranjado ou escurecido, os referidos autores lembram que heterósidos flavônicos e compostos antraquinônicos localizam-se dissolvidos, principalmente, no citoplasma de células parenquimatosas e acrescentam que o método de utilização de KOH não é específico e pode originar outras colorações referentes a outras substâncias como taninos.

O teste com lugol resultou positivo, o que revela a presença de grãos de amido esparsamente distribuídos entre as células parenquimáticas (figura 12 B). De acordo com Meyer *et al.* (1965) e Costa (1994), os grãos de amido embora variem em tamanho e número, apresentam forma praticamente constante a uma determinada espécie, sendo por isso importantes para a sua identificação.

O cloreto férrico reagiu apenas nos cortes que não passaram pelo processo de clarificação em hipoclorito de sódio nas células do parênquima paliçádico onde, em contato com o reagente, apresentaram-se enegrecidas (figura 12 D) conforme a reação descrita como positiva para compostos fenólicos segundo Kraus & Arduin (1997).

Todos os testes microquímicos realizados confirmam a análise fitoquímica, em ambos se encontram as mesmas classes de metabólitos.

Quadro 2: Resultado dos testes microquímicos

	Limbo	Nervura Central	Margem
Alcaloides	-	+	+
Amido	+	+	+
Antraquinonas	+	+	+
Flavonoides	+	+	+
Comp. Fenólicos	+	+	+

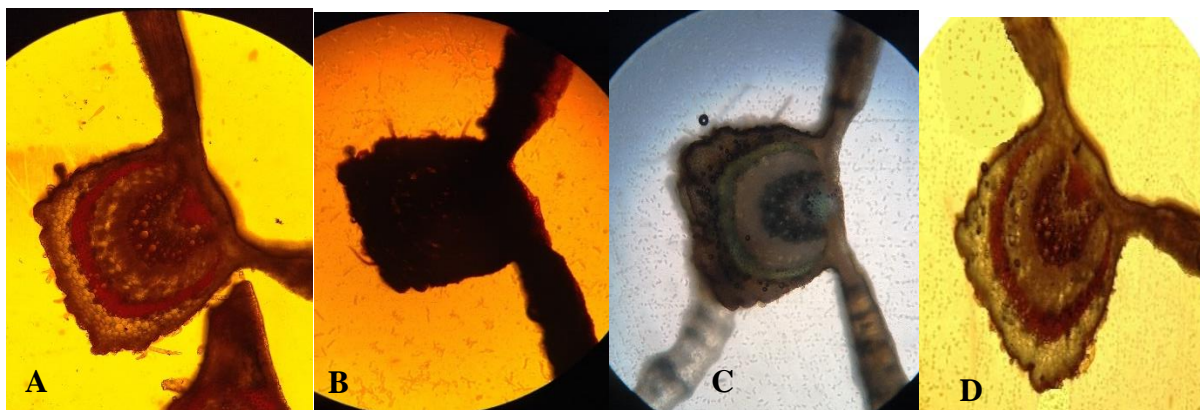


Figura 12- Fotomicroscopia dos testes microquímicos positivos em *B. monandra* (nervura central)
 Fonte: LAFQ. A: alcaloides, B: amido, C: antraquinonas, D: compostos fenólicos.

5.4 Abordagem físico-química das drogas vegetais

5.4.1 PERDA POR DESSECAÇÃO DO MATERIAL VEGETAL OU TEOR DE UMIDADE.

A droga vegetal pulverizada apresentou teor de umidade 8,38 %. Esta análise é de fundamental importância para avaliar a capacidade de conservação e armazenamento da matéria-prima vegetal, pois a umidade é o principal fator para o desenvolvimento de micro-organismos. O resultado encontrado apresenta-se dentro dos parâmetros preconizados pela Farmacopeia Brasileira (2010), que admite valores até 14 %.

5.4.2 DETERMINAÇÃO GRANULOMÉTRICA DO PÓ DA DROGA VEGETAL

A análise granulométrica do material vegetal pulverizado é um parâmetro muito importante, uma vez que a granulometria da droga vegetal influencia diretamente na eficiência do processo extrativo. Esse parâmetro é condicionado pelo processo de trituração ou moagem do material vegetal. Após a tamisação do pó das folhas, constatou-se que as partículas passaram em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 355 μm e menos de 40 % do pó (7,2 g) passaram pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μm , caracterizando-o como pó de granulometria semifina.

5.4.3 DETERMINAÇÃO DE CINZAS TOTAIS

A amostra submetida a essa análise apresentou teor de cinzas totais de 13,1 %, o que corresponde a quantidade de substâncias não voláteis resistentes ao processo de incineração. Os valores encontrados estão de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010).

5.5 Controle de qualidade microbiológico do RATPV

Após o período de incubação, não foi observado crescimento microbiano em todas as placas e tubos utilizados no ensaio (figuras 13 e 14).

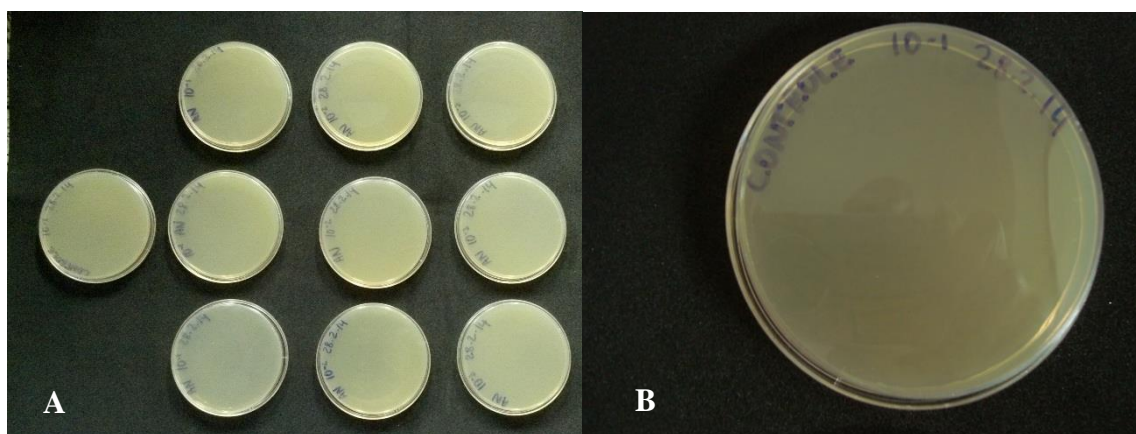


Figura 13- Placas utilizadas para o controle microbiológico do RATPV. A: meios de cultura ágar sabouraud (AS), ágar aspergillus (AA) e ágar nutriente (NA); B: placa com meio AN utilizada como controle negativo.

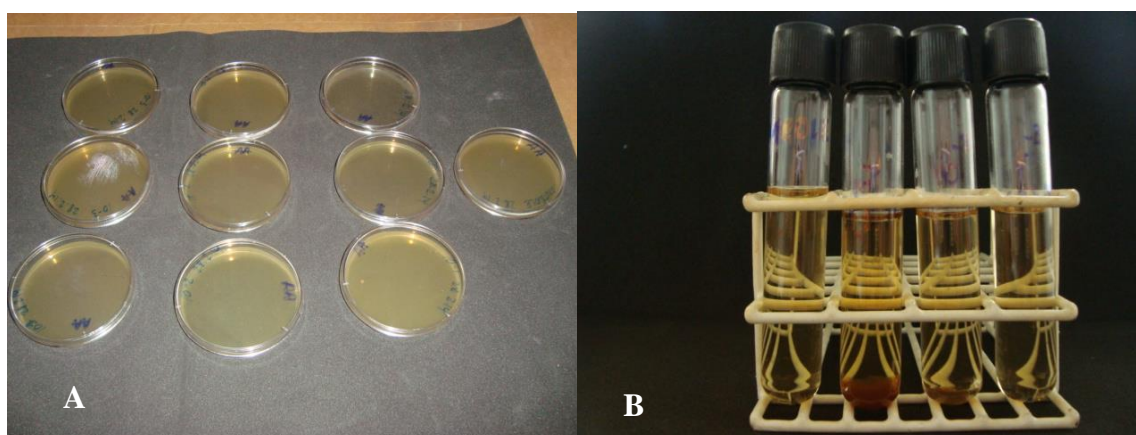


Figura 14- Resultado do controle de qualidade microbiológico do RATPV. A: placas com meios de cultura ágar sabouraud (AS), ágar aspergillus (AA) e ágar nutriente (AN) sem crescimento microbiano; B: tubos com caldo lactose sem crescimento microbiano.

5.6 Rendimento do extrato hidroetanólico concentrado (EHC)

A seleção do material vegetal forneceu 975,65 g de folhas de *B. monandra*, que depois de secas e moídas renderam 402,25 g. Após a extração de 250 g de droga vegetal e concentração do extrato, obteve-se 42,9 g de EHC que correspondem a 17,2 % em relação à droga.

5.7 Prospecção fitoquímica preliminar

As classes de metabólitos demonstradas no quadro 3 foram detectadas nos testes fitoquímicos, no Remédio Artesanal “Tintura de Pata-de-vaca” (RATPV) e no extrato hidroetanólico concentrado (EHC).

Quadro 3: Classes de metabólitos detectadas na abordagem fitoquímica preliminar para RATPV e para *B. monandra*.

CLASSES DE METABÓLITOS	RATPV	<i>B.monandra</i>
Saponinas	-	-
Ácidos orgânicos	+	+
Esteroides e triterpenos	+	+
Azulenos	-	-
Glicosídeos cardíacos	-	-
Flavonoides	+	+
Derivados de Benzoquinonas, Naftoquinonas e Fenantraquinonas.	+	+
Sesquiterpenolactonas	+	+
Purinas	-	-
Alcaloides { Dragendorff	+	+
Boucharlat	+	+
Mayer	+	+
Açúcares redutores	+	+
Polissacarídeos	-	-
Fenóis e taninos	+	+
Proteínas e Aminoácidos	-	-
Catequinas	+	+

As classes de metabólitos detectadas foram: ácidos orgânicos, esteroides e triterpenos, flavonoides, derivados de benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas, sesquiterpenolactonas, alcaloides, açúcares redutores, fenóis e

taninos e catequinas. A presença desses compostos foi referida por Macedo *et al* (2008) e por Aguiar (2010).

Em EHC, bem como na tintura artesanal, não foi detectada a presença de saponinas ou azulenos, o que está de acordo com Silva e Cechinel Filho (2002), em trabalhos publicados sobre o gênero *Bauhinia*.

As análises para detecção de ácidos orgânicos, derivados de benzoquinonas, naftoquinonas e fenantraquinonas e de sesquiterpenolactonas, apresentaram reação positiva em EHC assim como na tintura artesanal. O estudo de Macedo *et al.* (2008), refere a presença desses metabólitos no extrato aquoso das folhas *B. monandra*.

O extrato hidroetanólico apresentou resultado positivo para alcaloides. Os alcaloides estão presentes nos extratos aquosos e etanólicos das folhas dessa espécie vegetal (JARDIM, SILVA e COSTA-NETO, 2005; MACEDO *et al*, 2008).

Os taninos, substâncias de natureza fenólica e hidrossolúveis, foram detectados no extrato etanólico concentrado das folhas de *B. monandra* (SIMÕES *et. al*, 2001).

Os esteroides ou triterpenos constituem os óleos essenciais ou voláteis. Esses metabólitos foram detectados no extrato concentrado da espécie em estudo, o que está de acordo com Macedo *et al* (2008).

5.8 Fracionamento de EHC

O alto rendimento da fração preparada com metanol, indica que o preparado é rico em substâncias de mais alta polaridade. Os valores estão representados na tabela 3.

No fracionamento, observou-se a ocorrência de material insolúvel, que foi recolhido e denominado fração residual. As frações foram analisadas por CCD.

O rendimento total do processo (98,2%) mostra a eficiência da técnica quando bem executada.

Tabela 2- Rendimento obtido com o fracionamento do EHC.

<i>B.monandra</i>		
FRAÇÕES	Massa (g)	%
FH	1,71	17,10
FC	0,32	3,20
FAE	0,19	1,90
FM	2,25	22,50
FR	5,35	53,50
TOTAL	9,82	98,2

5.9 Análise por Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Os eluentes clorofórmio/metanol (90:10) e clorofórmio/metanol/água (70:25:05) não proporcionaram cromatogramas com boa resolução.

A fase móvel que se mostrou mais adequada para a análise dos componentes de baixa e média polaridade é composta de hexano e acetona (70:30; v/v) por ter proporcionado melhor resolução do cromatograma, com as bandas posicionadas no terço médio da cromatoplaça em todas as amostras (Rf entre 0,36 e 0,55), conforme está ilustrado na Figura 15.

As frações clorofórmica e acetato de etila mostraram-se mais promissoras pois apresentaram forte reação com o cloreto férrico, sugerindo conter flavonoides.

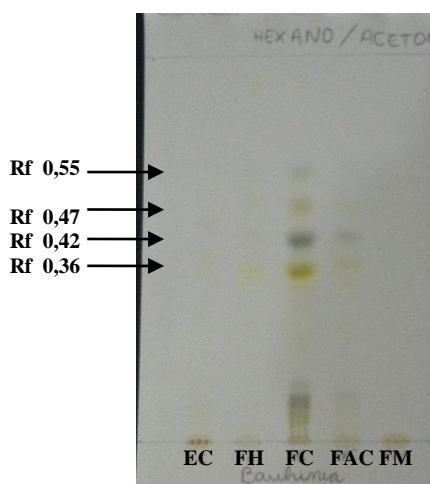


Figura 15- Cromatograma de *B. monandra* sob luz visível, hexano/acetona 70:30. (EC) extrato concentrado, (FH) fração hexânica, (FC) fração clorofórmica, (FAE) fração acetato de etila, (FM) fração metanólica.

A fração acetato de etila apresentou bandas com Rf 0,36; 0,42; 0,47 e 0,55; melhor visualizadas sob luz ultravioleta em comprimento de onda de 254nm, o que sugere tratem-se de substâncias com grupos cromóforos semelhantes (Figura 16).

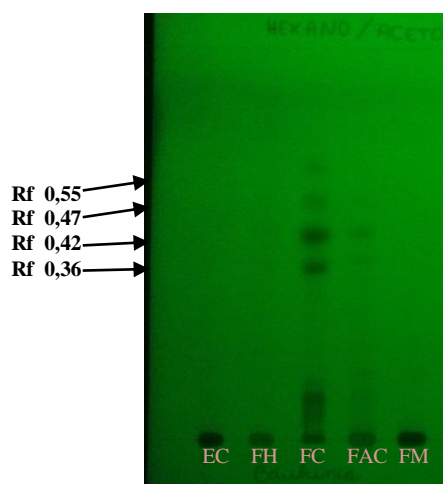


Figura 16- Cromatograma de *B. monandra* sob luz ultravioleta 254nm, hexano/ acetona 70:30. (EC) extrato concentrado, (FH) fração hexânica, (FC) fração clorofórmica, (FAE) fração acetato de etila, (FM) fração metanólica.

Foi observada a concentração de substâncias nas regiões de aplicação (Figura 17), o que sugere tratarem-se de substâncias de elevada polaridade que não foram deslocadas por hexano/acetona (70:30).



Figura 17- Cromatograma de *B. monandra* sob luz ultravioleta 365nm, hexano/acetona 70:30. (EC) extrato concentrado, (FH) fração hexânica, (FC) fração clorofórmica, (FAE) fração acetato de etila, (FM) fração metanólica.

Para analisar as substâncias que ficaram retidas na base do cromatograma anteriormente descrito, comparando o EHC e as respectivas frações, foi utilizada a fase móvel composta por acetato de etila/ácido acético glacial/ ácido fórmico/água (100:11:11:26) e NP/PEG como revelador, segundo Wagner e Bladt (2001).

Foram utilizados os padrões rutina, quercetina, ácido elágico e ácido clorogênico, para comparação das bandas observadas em EHC e RATPV. Ambos apresentaram bandas com Rf 0,2 semelhantes à da rutina. Não foram observadas

bandas com Rf semelhantes aos dos ácidos elágico e clorogênico e nem da quercetina. (figura18)

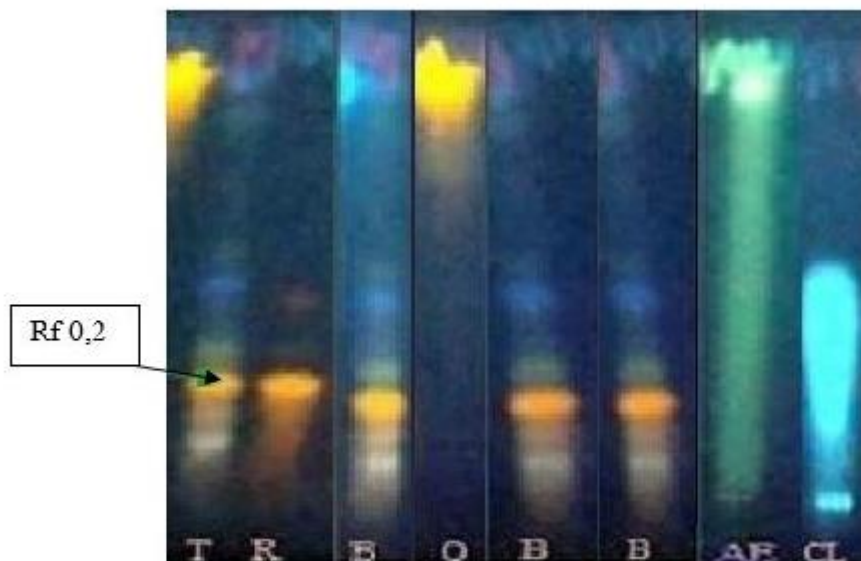


Figura 18 - Cromatograma de *B. monandra* sob luz ultravioleta 365nm, acetato de etila/ácido acético glacial/ácido fórmico/água (100:11:11:26). (R) padrão rutina, (CL) padrão ácido clorogênico, (Q) padrão quercetina, (AE) padrão ácido elágico, (B) EHC de *B. monandra*, (T) RATPV.

5.10 Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

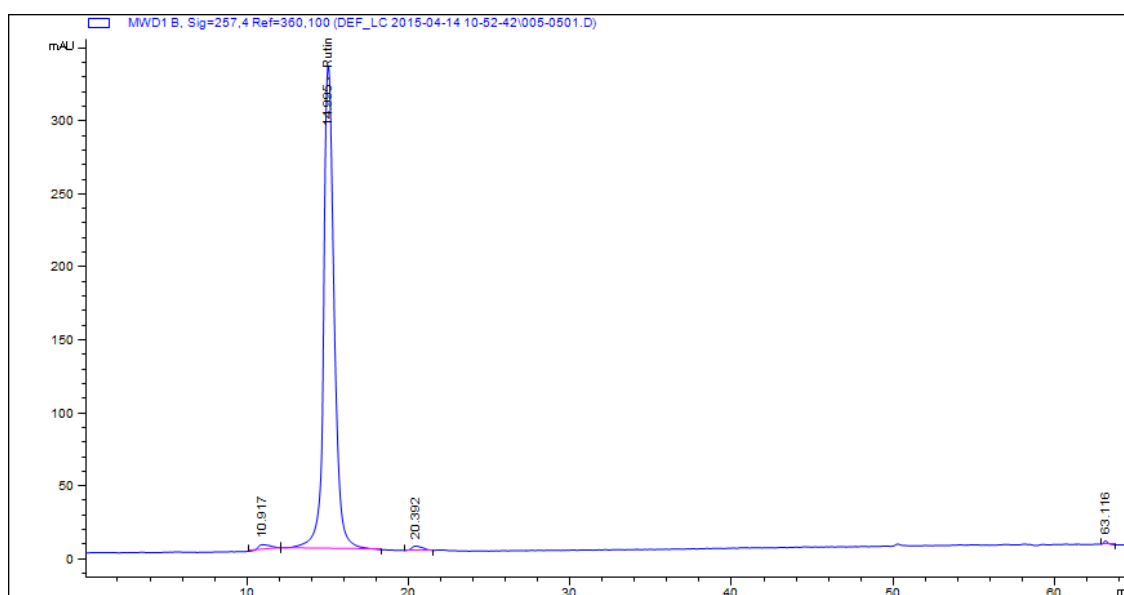


Figura 19: Cromatograma de rutina, registrado a 254 nm.

O cromatograma apresentado na figura 19, mostra um pico principal com tempo de retenção 14,995 minutos e área 1030, com 90,6% de pureza, relativo a rutina,

usada como substância de referência, que já foi isolada anteriormente de *Bauhinia monandra* (Fernandes *et al.*, 2012).

No cromatograma obtido a 254 nm pela análise do EHC, observa-se um pico com tempo de retenção a 254 nm em 14,603 minutos, com espectro de UV semelhante ao observado para a rutina, com área de 1479 correspondente a 27,8 % de pureza (figura 20). Ambos foram registrados nas mesmas condições cromatográficas.

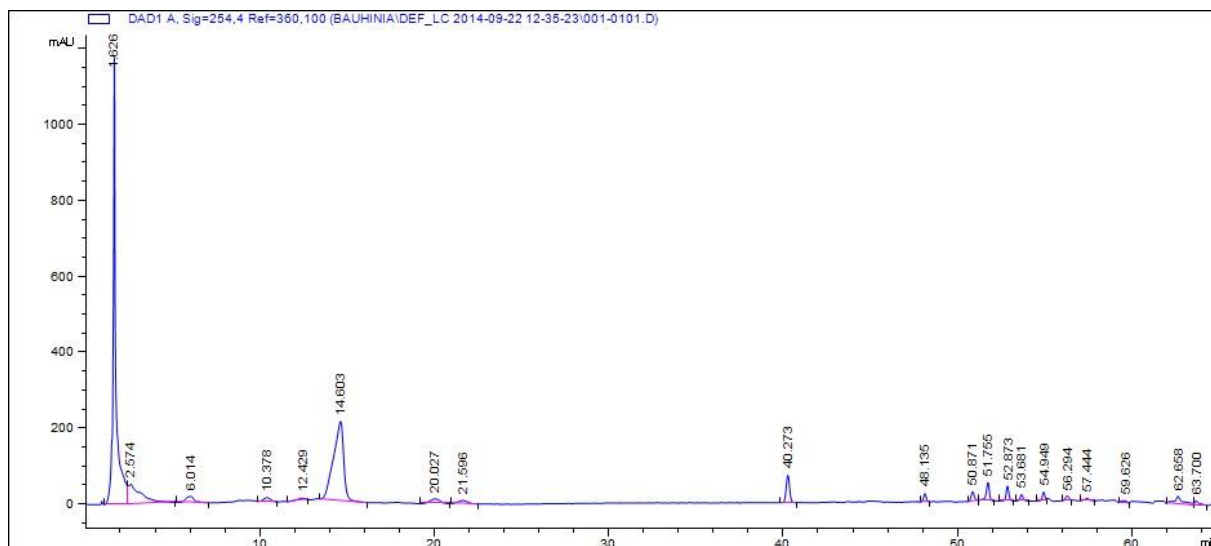


Figura 20: Perfil cromatográfico por CLAE-DAD do EHC de *B. monandra*, registrado a 254 nm.

Com a co-injeção de EHC e padrão, observou-se aumento da área do pico que sugere tratar-se de rutina, registrado em 15,267 min. Esses dados reforçam o entendimento de que a rutina esteja presente no EHC. A co-injeção do EHC à rutina está representado na figura 22.

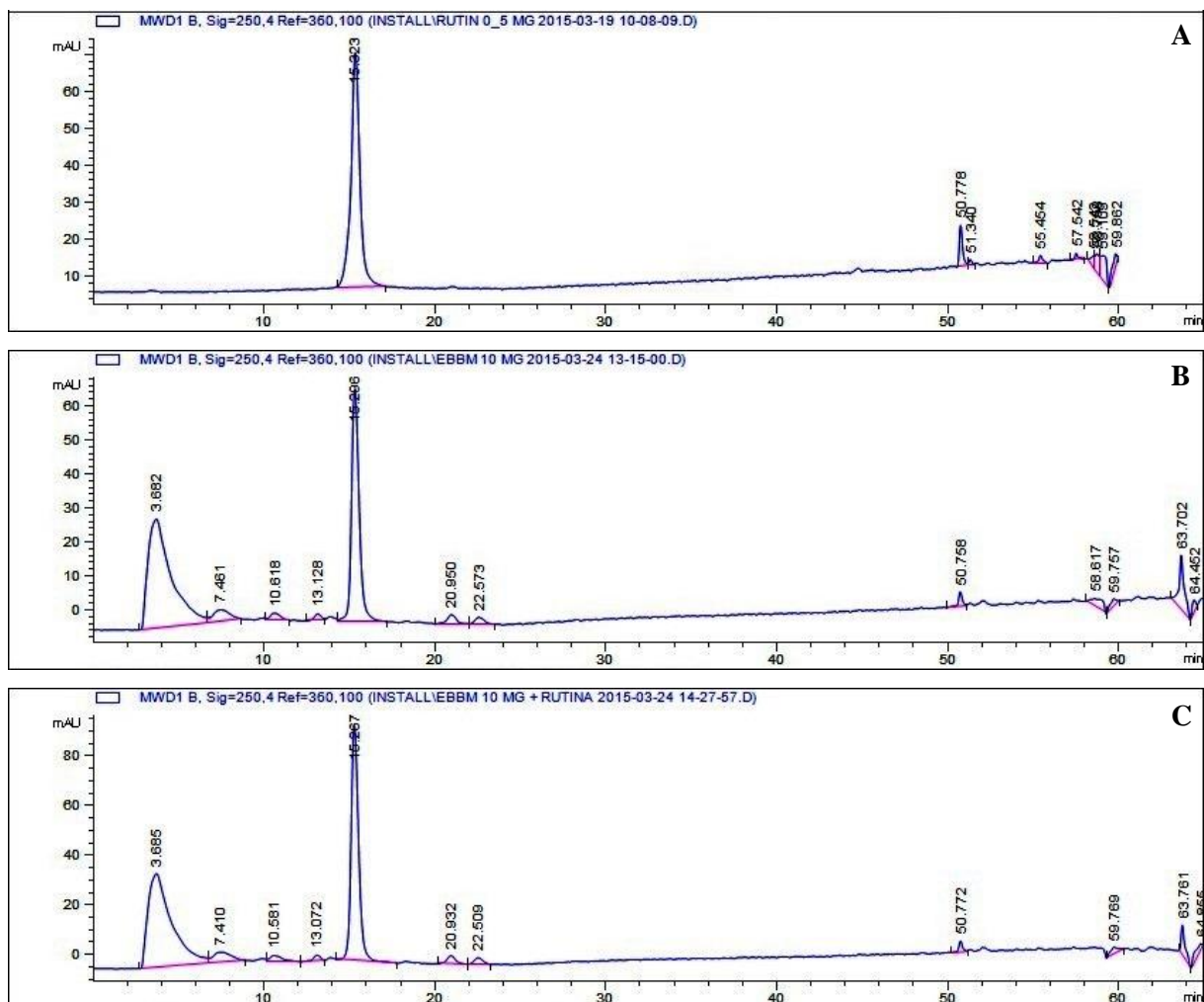


Figura 21- Cromatogramas obtidos pela análise do EHC por CLAE após adição do padrão rutina, λ 250nm. (A) rutina, (B) EHC, (C) co-injeção.

A adição de 100 μ g do padrão rutina ao RATPV, promoveu aumento de aproximadamente 6 % na área do pico, registrado no tempo de 15.291 min, com área de 1566. Este aumento da área do pico permite inferir que a rutina esteja presente em RATPV, visto que a quantidade adicionada de rutina foi eluída no mesmo tempo de retenção. O cromatograma resultante da co-injeção está representado na figura 21.

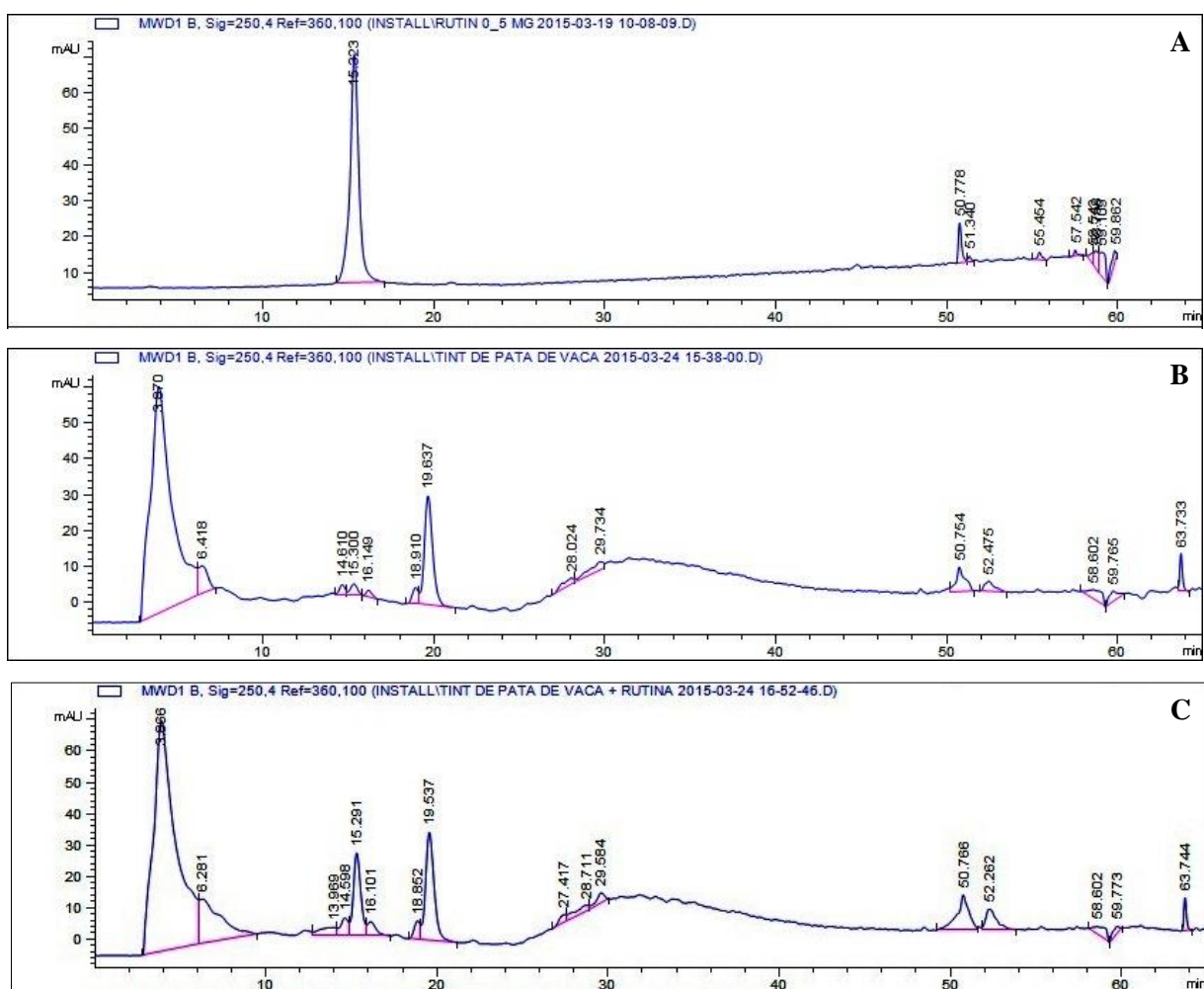


Figura 22: Cromatogramas obtidos pela análise do RATPV por CLAE após adição do padrão rutina, λ 250 nm. (A)rutina, (B) RATPV, (C) co-injeção.

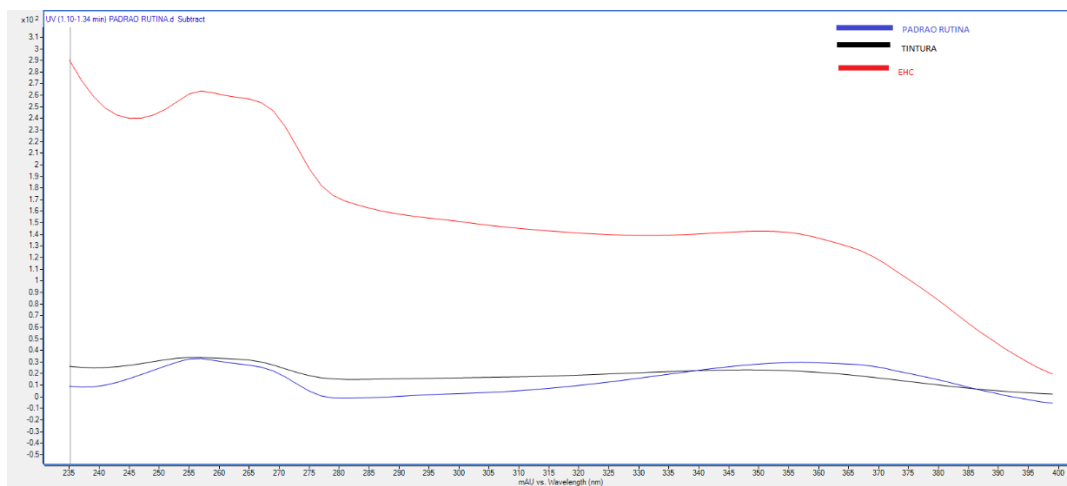


Figura 23- Sobreposição dos espectros de ultravioleta da rutina e picos correspondentes observados para EHC e RATPV no mesmo Rt.

6 CONCLUSÃO

6 CONCLUSÃO

A espécie vegetal em estudo foi identificada como: *Bauhinia monandra* Kurz.

B. monandra apresentou teor de umidade de 8,38 %, o que indica a boa condição para armazenamento da droga vegetal, aumentando sua estabilidade.

O pó da droga vegetal de *B. monandra* foi classificado como pó de granulometria semifina e apresentou teor de cinzas totais de 13,1 %.

Esteroides e triterpenos, flavonoides, açúcares redutores, fenóis e taninos e catequinas foram as classes de metabólitos detectadas na prospecção fitoquímica preliminar de *B. monandra* e também do remédio artesanal, sendo que os flavonoides são a classe de metabólitos de interesse neste estudo.

Os testes microquímicos permitiram confirmar a ocorrência de grupos de metabólitos ativos. Os resultados obtidos são de extrema significância, já que mostram que as folhas possuem importantes grupos ativos o que pode explicar a utilização da espécie como medicinal.

O tratamento dos cortes com hipoclorito de sódio demonstrou a vulnerabilidade dos compostos fenólicos ao reagente clarificador.

A análise por CCD, indicou a presença de rutina em *B. monandra*.

A análise por CLAE permitiu caracterizar a presença de rutina no RATPV e no EHC.

O remédio artesanal denominado “tintura de pata-de-vaca” pode ser considerado análogo às tinturas de padrão farmacopeico, devido ser uma preparação hidroalcoólica que utiliza a maceração como método de extração e possui concentração de 20% (p/v).

As análises cromatográficas usando rutina como substância de referência, indicam a presença dessa substância em EHC e RAPTIV e, de acordo com dados da literatura, a ocorrência de rutina em RAPTIV pode justificar seu uso no controle do diabetes melito.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

AGUIAR, T.M. **Caracterização química e física das folhas, frutos e sementes do bajuru (*Chrysobalanus icaco*, L.) e avaliação do chá dessas folhas em camundongos (swiss) normais e diabéticos**. 2010, 95 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2010.

ALARCON-AGUILAR, F. J.; ROMAN-RAMOS, R.; FLORES-SAENZ, J. L., AGUIRRE-GARCIA, F. Investigation of hypoglycaemic effects of extracts of four Mexican medicinal plants in norma and alloxan-diabetic mice. **Phytotherapy Research**, Londres, v. 16, p. 383-386, 2002.

ALBUQUERQUE, U. P; HANAZAKI, N. As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e perspectivas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, n. 16, p. 678-689, 2006.

ALONSO, J.R. **Tratado de Fitomedicina: bases clínicas e farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones, 2000. 805-806p.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. *Diagnosis and classification of Diabetes Mellitus*. **Diabetes Care**, v. 29, p.43-48, 2006.

ANDERSEN, O. M.; MARKHAM, K. R. **Flavonoids: chemistry, biochemistry, and applications**. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 1197 p.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v.66, n.1. p. 1-9, 2007.

ARAÚJO, A.A.S., MERCURI, A.L.P., SEIXAS, S.R.S., STORPIRTIS, S., MATOS, J.R. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 42(2), p. 269-277, 2006.

ARGOLO, A. C. C.; SANT'ANA, A. E. G.; PLETSCH, M.; COELHO, L.C.B.B. Antioxidant activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*". **Bioresource Technology**, v. 95, n 2, p. 229-233, 2004.

ARNOUS, A. H.; SANTOS, A. S.; BEINNER, R. P. C. Plantas medicinais de uso caseiro - conhecimento popular e interesse por cultivo comunitário. **Revista Espaço para a Saúde**, Londrina, v.6, n.2, p.1-6, 2005.

BARBOSA, W.L.R. (Org) Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais. **Revista Científica da UFPA**. Belém-PA. Vol.4. 2004. Disponível em <http://www.ufpa.br/rcientifica>. Acesso em 12 de maio de 2012.

BARBOSA, W.L.R. (Org.) **Etnofarmácia: fitoterapia popular e ciência farmacêutica**. 2ª Ed, Curitiba-PR, CVR, 2011.

BARBOSA, W.L.R.; PERES, A. **Detecção e caracterização por cromatografia líquida de alta eficiência de rutina em extratos de *Chrysobalanus icaco* L.** XVII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, Cuiabá, 2002.

BARBOSA, W.L.R.; PERES, A.; GALLORI, S.; VINCIERI, F. F. Determination of myricetin derivatives in *Chrysobalanus icaco* L. (*Chrysobalanaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.16, p. 333-337, 2006.

BARBOSA-FILHO; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L.M.; OLIVEIRA, R.A.G; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.; BARNES, J.; ANDERSON, L. A.; PHILLIPSON, J. D. **Herbal medicine**. 3rd Edition, Pharmaceutical Press, London. p. 1-23, 2007.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. P.; DAVID, J. M. **Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e a defesa do organismo**. *Química nova*, v. 29, p. 113-126, 2006.

BARROS, P. M. S. S.; COUTO, N. M. G.; SILVA, A. S. B.; BARBOSA, W. L. R. Development and validation of a method for the quantification of an alkaloid fraction of *Himatanthus lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson by Ultraviolet Spectroscopy. **Journal of Chemistry**, v 2013, 2013.

BERNE, R. M.; GENUTH, S. M. **Fisiologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 190, 2000.

BORGES, K. B.; BAUTISTA, H. B.; GUILERA, S. Diabetes – Utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Revista eletrônica de Farmácia**.2. 2008.

BORGES, F. I.; MENDONÇA, M. S.; SILVA, E. F.; XAVIER JÚNIOR, S. R. Estudo morfoanatômico das folhas de *Bauhinia monandra* Kurz. (LEGUMINOSAE-CAESALPINIOIDEAE). Feira de Santana- BA 28/06 a 03/07/2009. 60º Congresso Nacional de Botânica.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n. 899 de 29 de maio de 2003. **Dispõe sobre o guia para validação de processos analíticos e bioanalíticos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2004.

_____. **Diabetes mellitus**. Cadernos de atenção básica, 16. Brasília, 2006.

_____. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Série C. Projetos, Programas e Relatórios. Brasília, 2009.

CAPASSO, F. Medicinal Plants: an approach to the study of naturally occurring drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 13, 1995.

CARVALHO, A.C.B.; DINIZ, M.F.F.M.; MUKHERJEE, R. Estudo da atividade antidiabética de algumas plantas de uso popular contra o diabetes no Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v.86, n.1, p. 11-16, 2005.

CASTILHO, R.O.; KAPLAN, M.A.C. **Estudo fitoquímico do extrato polar de *Chrysobalanus icaco* L.** 54ª Reunião Anual da SBPC. Goiânia. 2002.

_____. Chemosystematics of the Rosiflorae. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n.3, p.633-640, 2008.

_____. Constituintes químicos de *Licania tomentosa* Benth (Chrysobalanaceae). **Química Nova**, v. 31, p.66-69, 2008.

CAZAROLLI, L.H., ZANATTA, L., JORGE, A.P., SOUZA, E., HORST, H., WOEHL, V.M., PIZZOLATTI, M.G., SZPOGANICZ, B., SILVA, F.R.M.B. Follow-up studies on glycosylated flavonoids and their complexes with vanadium: Their anti-hyperglycemic potential role in diabetes. **Chemico-biological interactions**, v. 163, p. 177-191, 2006.

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. São Paulo: Química Nova, 1998.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Org.). **Fundamentos de cromatografia**. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2006.

CONNOLLY, J. D.; HILL, R. A. *Triterpenoids*. **Natural Products Report**, v. 18, p. 560-578, 2000.

COUTINHO, M. A. S; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides: Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**. v. 1, n. 3, p. 241-256, 2009.

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

DI STASI, L. C. (Org). **Plantas medicinais: arte e ciência, um guia para uma pesquisa interdisciplinar**. São Paulo: Fundação Editora Unesp, 1996, 230 p.

DONATINI, R. **Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Syzygium jambos* (L.) Alston**. 2003. 107 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

DONATO, A. M; MORRETES, B. L. Anatomia foliar de *Eugenia brasiliensis* Lam. (Myrtaceae) proveniente de áreas de restinga e de floresta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 17, n. 3, p. 426-443, 2007.

ELDER, C. Ayurveda for diabetes mellitus: a review of the biomedical literature. **Alternative Therapy Health Medicine**, v. 10, p.44-50, 2004.

ELISABETSKY, E. **Etnofarmacologia como ferramenta na busca de substâncias ativas** in SIMÕES, C.M.O et AL. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre, Florianópolis: UFRS, UFSC, 1999.

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

FERNANDES, A.J., FERREIRA, M.R., RANDAU; K.P., DE SOUZA, T.P., SOARES, L.A. Total flavonoids content in the raw material and aqueous extractives from *Bauhinia monandra* Kurz (Caesalpinaceae). **The Scientific World Journal**, ID 923462, v. 2012, 2012.

FLOR, A. S. S. O. **Fitoterapia popular do bairro do Sossego distrito de Marudá-Pará**. 2014, 110 f. Dissertação (Mestrado em gestão em recursos naturais e desenvolvimento local na Amazônia). Universidade Federal do Pará. Belém, 2014.

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.
GODOY, P. Pâncreas Endócrino. In: BOGLIOLO, L. **Patologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000, 1004-1008 p.

GROVER, J. K; VATS, V; RATHI, S. S. Anti-hyperglycemic effect of *Eugenia jambolana* and *Tinospora cordifolia* in experimental diabetes and their effects on key metabolic enzymes involved in carbohydrate metabolism. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 73, p. 461-470, 2000.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. **Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine**. Phytochemistry, 1991.

HARPER, J. **Bioquímica clínica**. 4 Edição. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 1998.

HUO, Y.; WINTERS, W. D.; YAO, DA-LIN. **Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formulae**. *Phytotherapy. Res.*, v. 17, p. 48-55, 2003.

JARDIM, M. A. G.; SILVA, J. C.; COSTA-NETO, S. V. Fitoterapia popular e metabólitos secundários de espécies vegetais da Ilha de Algodal, Município de Maracanã, Estado do Pará, Brasil. Resultados preliminares. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 86(3), p.117-118, 2005.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 2ª ed. Vol. III. Lisboa: Editora Fundação Calouste Gulbenkian, 1982.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 4º ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1994. v. 2, p. 1-91.

DOMÍNGUEZ J. **Métodos de investigación en Fitoquímica**. México: Editorial Limusa; 1973.

JOHANSEN, D. A. **Plant microtechnique**. Nova York: Mc-Graw-Hill Book Co. Inc, 1940.

JORGE, A.P., HORST, H., SOUSA, E., PIZZOLATTI, M.G., SILVA, F.R.M.B. **Insulinomimetic effects of kaempferitrin on glycaemia andon ¹⁴C-glucose uptake in rat soleus muscle**. *Chemico-biological interactions*.;149:89-96, 2004.

- JORGE, L. I. F.; MARKMAN, B. E. O.; SILVA, C. B. M. Jambolão: *Syzygium cumini* (L.) Skeels. Elementos Histológicos Característicos das folhas, frutos e cascas. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.75, n.2, p. 38-39, 1994.
- KEATING, R. C. Leaf Histology and its contribution to Relationships in the Myrtales. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 71, n. 3, p. 801-823, 1984.
- KOSHY, A. S.; VIJAYALAKSHMI, R. Impact of certain flavonoids on lipid profiles. Potential action of *Garcinia cambogia* flavonoids. **Phytotherapy Research**, v. 15, p. 395-400, 2001.
- KRAUS, J. E.; ARDUIN, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro: EDUR, 1997.
- LAMEIRA, O.A.; PINTO, J.E.B.P. **Plantas medicinais: do cultivo, manipulação e uso à recomendação popular**. 1ª Ed. Belém. Embrapa Amazônia Oriental, 2008.
- LI, W. L.; ZHENG, H. C.; BUKURU, J.; De KIMPE, N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 92, p. 1-21, 2004.
- LINO, C.S.; SALES, T.P.; ALEXANDRE, F.S.O.; FERREIRA, J.M., SOUSA, D.F.; GOMES, P.B.; AMARAL, J.F.; MAIA, F.D.; SILVEIRA, E.R.; QUEIROZ, M.G.R.; SOUSA, F.C.F.; VIANA, G.S.B. Antioxidant activity of a *Cissus verticillata* fraction and tyramine, its bioactive constituent, on alloxan-induced diabetic rats. **The Open Pharmacology Journal**, v. 2, p.63-69, 2008.
- LITTLE, E. L. J.; WOODBURY, R. O.; WADSWORTH, F. H.. Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands, **Agriculture Handbook 449**, v.2. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, 1974.
- LORENZI, H. e MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.
- MACÊDO, M. F. S.; SISENANDO, H. A. A. C. N.; QUEIROZ, J. D. F.; ARGOLO, A. C. C.; SATURNINO, A.C. R. D.; COELHO, L. C. C. B.; MEDEIROS, S. R. B. Determining the genotoxicity of an aqueous infusion of *Bauhinia monandra* leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.18, p. 509-516, 2008.
- MALHEIROS, L. C. S. Isoeleuterol e Isoeleuterina: Potenciais marcadores químicos da tintura de *Eleutherine plicata* Herb. (Iridaceae) e atividades microbiológica e antioxidante. 2008, 67f. Dissertação (Mestrado em ciências farmacêuticas). Universidade Federal do Pará. Belém, 2008.
- MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. Review. **Phytomedicine**, v.2, p. 137-189, 1995.
- MATOS, F. J. A. **Fármacias vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades**. 3ª Ed. Ceará: EUFC, 1998.

MENEZES, F.S., MINTO, A.B.M., RUELA, H.S., KUSTE, R.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, p.08-13, 2007.

MEYER, B. S.; ANDERSON, D. B. & BÖHNING. **Introdução à fisiologia vegetal**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1965.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem**. vol 1. Oxford: Clarendon Press. 1988.

MIGLIATO, K. F.; BABY, A. R.; ZAGUE, V.; VELASCO, M. V. R.; CORRÊA, M. A. SACRAMENTO, L. V. S.; SALGADO, H. R. N. Ação farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 25, p.310-314, 2006.

MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South Central, and North America with hypoglycemic activity. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.15, p. 392-413, 2005.

MONTEIRO, M.M.; SOUZA, A.J.; BARBOSA, W.L.R. **Etnofarmácia: Saberes e gênero**. 1ª Ed. Curitiba-PR, CRV, 2012.

MORS, W.B.; RIZZINI, C.T.; PEREIRA, N.A. **Medicinal plants of Brazil**. Michigan: reference Publications, Inc. 2000.

NUNES, K.M., BARBOSA, W.L.R., OZELA, E.F., SILVA JÚNIOR, J.O.C. Padronização da Tintura de *Calendula officinalis* L. para seu Emprego em Formulações Semisólidas Fitoterápicas. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 28, p.344-350, 2009.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE / UNICEF. *Cuidados Primários em Saúde*. Relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979. 64 p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Atlas global de medicina tradicional, complementar e alternativa**. Geneva, 2005.

OSORNIO, G. E.; SIMÓN, G. V.; ENGLEMAN, M. **Contribución al estudio de la anatomia foliar del icaco (*Chrysobalanus icaco* L.)**. Biagro 14: 29-36. 2002.

PEPATO, M.T., BAVIERA, A.M., VENDRAMINI, R.C., BRUNETTI, I.L. Anti-diabetic activity of *Bauhinia monandra forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**.81:191-7, 2002.

PERES, L. E. P. **Metabolismo secundário**. Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2007. Disponível em: <<http://www.ciagri.usp.br/~lazaropp/FisioVegGradBio/MetSec.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2013.

PINTO, T. J. A., KANEKO, T. M., PINTO, A.F. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. São Paulo, Ateneu, 2010, 7805 p.

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

PRANCE, G.T. Chrysobalanaceae. **Flora Neotropica Monograph**, v.9, p.1-410. 1972.

_____. Chrysobalanaceae. **Flora Neotropica Monograph**, v.9, p.1-267. 1989.

PRISTA, G.A.; PEREIRA, N.A. Atividade do abajerú (*Chrysobalanus icaco* L., Chrysobalanaceae) em modelos experimentais para o estudo da planta. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 68: 91-101, 1987.

PURVIS, M. J.; COLLIER, D. C. & WALLS, D. **Laboratories techniques in botany**. London: Butterwoths, 1964.

RAMOS, A. **Professor Matos a transcendência do gênio e entrevista da Dra. Mary Anne**, 2012. Disponível em: <http://farmaciaviva-ufc.blogspot.com.br/2012/03/professor-matos-transcendencia-do-genio.html>. Acesso em: 01/08/2013.

RAW, I. Mecanismo de ação da insulina. **Revista de Medicina**, v. 32, p.199-210, 1948.

ROBBINS, S. L.; COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; TARANTO, G. **Patologia estrutural e funcional**. 4. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Kogan, 1991. p. 817-826.

ROCHA, F.D; TEIXEIRA, V.L.; PEREIRA, R.C.; KAPLAN, M.A.C. Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v.87, n. 2, p.49-54, 2006.

SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S.; AZAIZEH, H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 83, p. 251-265, 2002.

SAXENA, A.; VIKRAM, N. K. Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 10, p. 369-378, 2004.

SHARMA, B. S. *et al.* Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 104, p 367-373, 2006.

SHOELSON, S. E. **Insulin and other antidiabetic agents**. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3th. Edn, John Wiley, New York, v. 14, p. 662-676, 1995.

SILVA, A. S. B.; PINHEIRO, B. G.; FIGUEIREDO, J.G.; SOUZA, G. E. P.; CUNHA, F. Q.; LAHLOU, S., BARBOSA, W. L. R.; SOUSA, P. J. C. Antinociceptive and antiinflammatory activities of the aqueous extract of *Mikania lindleyana* in rodents. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3(6), p 1637-1646, 2012.

SILVA, K.; CECHINEL, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química nova**, v. 25, n. 3, p 449-454, 2002.

SILVA, M. B. S. **Flavonoides com capacidade antioxidante**. Química aplicada. Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa. Disponível em: <<http://www.dq.fct.unl.pt/cadeiras/docinf/main/Trabalhos%20DI%20PDF/Artigo%20Marisa.pdf>>. Acesso em: 27 mar. 2013.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P. de; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. Universidade/UFRGS / Ed. da UFSC, 1999. 821p.

SIQUEIRA-NUNES, A.; MARTINS, M. B. G. Estudo anatômico de folhas de *Syzygium cumini* (L.) Skeels (Myrtaceae). **Revista Biociências**, UNITAU. v. 16, n. 2, p. 116-122, 2010.

SOARES, F.C.; FUTURO, D.; CASTILHO, S. R. **Uso racional das plantas medicinais**. Informativo Ceatrim, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Tratamento e acompanhamento do diabetes mellitus: diretrizes da sociedade brasileira de diabetes**. Rio de Janeiro, 2012.

SOUZA, E., ZANATTA, L., SEIFRIZ, I., CRECZYNSKI-PASA, T.B., PIZZOLATTI, M.G., SZPOGANICZ, B. Hypoglycemic effect and antioxidante potential of kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* Leaves. **Journal of natural products**. v.67(5), p.829-32, 2004.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamos nativa e exóticas no Brasil, baseado em APG II**. 2ª Ed. Instituto Plantarum. Nova Odessa. 2008.

TOMAZZONI, M. I.; NEGRELLE, R. R. B., CENTA, M. L. Fitoterapia popular: a busca instrumental enquanto prática terapêutica. *Texto & Contexto Enferm*. Florianópolis, v. 15 n. 1, p. 115-121, 2006.

VASCONCELOS, F., SAMPAIO, S.V., GARÓFALO, M.A.R., GUIMARÃES, L.F.L., GIGLIO, J.R., ARANTES, E.C. Insulin-like effects of *Bauhinia forficata* aqueous extract upon *Tityus serrulatus* scorpion envenoming. **Journal of Ethnopharmacology**. v.95, p.385-392, 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, 2005.

VIEIRA, L.S. **Fitoterapia da Amazônia - manual das plantas medicinais**. São Paulo: Agronômica Ceres, p. 347, 1992.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 4, p.35-45, 2002.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis. A thin layer chromatography atlas.** 2 ed. New York. Springer, 2001, 196-197p.

YAMADA, C.S.B. Fitoterapia: sua história e importância. **Revista Racine**, v.43, p. 50-51. 1998.

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

