

Estudo fitoquímico de *Bauhinia forficata* (Fabaceae)

Rangel Carvalho Simões¹ e Sheylla Susan Moreira da Silva de Almeida¹

1. Laboratório de Farmacognosia e Fitoquímica, Universidade Federal do Amapá, Rodovia Juscelino Kubistchek, KM-02. Jardim Marco Zero - 68.902-280 - Macapá-AP, Brasil. Telefone: (96) 4009-2925.

RESUMO: O presente trabalho descreve resultados de prospecção fitoquímica preliminar, bioensaio com *Artemia salina* e atividade antimicrobiana da *Bauhinia forficata* Link, conhecida popularmente como Pata-de-vaca. O gênero *Bauhinia* é pantropical, suas espécies são utilizadas em vários tratamentos, como antidiabético, infecções e processos dolorosos. O "screening" fitoquímico foi realizado com o Extrato Bruto Etanólico (EBE) sendo o mesmo obtido a partir da percolação do pó das cascas do caule da *B. forficata* Link com o solvente etanol, que posteriormente foi concentrado. O método de análise de toxicidade com *Artemia salina* utilizou a taxa de metanauplios mortos para determinar sua CL_{50} . E para a avaliação da atividade antimicrobiana, foi utilizado o teste de difusão a disco, com cepas de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922) e antibióticos padronizados, para o teste o EBE foi utilizado nas concentrações 25mg/mL, 50mg/mL e 100mg/mL. Observou-se a presença de metabólitos secundários Açúcares Redutores, Depsídeos e Depsidonas, Fenóis e Taninos, Antraquinonas e Flavonóides na constituição do EBE. Na avaliação da citotoxicidade do EBE a $CL_{50\%}$ foi de 853,80µg/mL, apresentando baixa toxicidade. Para o teste antimicrobiano não se observou inibição em nenhuma das concentrações testadas. A presença de algumas classes de metabólitos secundários corrobora em parte com as atividades alegadas pela população, principalmente flavonóides, que apresentam ação hipoglicemiante, em estudos posteriores serão realizados teste para a comprovação desta ação farmacológica.

Palavras-chave: pata-de-vaca, prospecção fitoquímica, ensaio toxicológico, ação antibacteriana.

Phytochemical study *Bauhinia forficata* (Fabaceae)

ABSTRACT: The present study describes the results of preliminary phytochemical screening, Toxicological *Artemia salina* bioassay and antimicrobial activity in *Bauhinia forficata* link, known for popularly Pata-de-vaca. The *Bauhinia* is a pantropical genus, its species are used in the treatment of several infections and diseases, especially diabetes. The phytochemical prospection used crude ethanolic extract (EBE) of the stem bark of *Bauhinia forficata* Link; the toxicity analyses in *Artemia salina* for given $LC_{50\%}$. For the evaluation of the antimicrobial activity was used the method of diffusion-disk with strains of *Klebsiella pneumoniae* (ATCC13883), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) and standard antibiotics, EBE was used at concentrations of 25mg/mL, 50mg/mL and 100mg/mL. Observed in the phytochemical screening the presence of reducing sugars, Depsídeos and Depsidonas, phenols and tannins, anthraquinones and flavonoids. For cytotoxicity $LC_{50\%}$ was 853.80 mg / mL with low toxicity. To test the antimicrobial no inhibition was observed at any concentration. The presence of some classes of secondary metabolites corroborates in part to the activities alleged by the population, mainly flavonoids, which have hypoglycemic action, more studies to confirm this biological activity must be performed.

Keywords: pata-de-vaca, phytochemical screening, toxicology test, antibacterial action.

1. Introdução

O uso de plantas para o tratamento de doenças foi documentado em todas as sociedades humanas, sendo parte da cultura de cada povo (caracterizando a etnomedicina). Com o decorrer do desenvolvimento da medicina moderna o conhecimento tradicional ou empírico foi deixado de lado, por não possuir qualquer base farmacológica comprovada, sendo o caracterizando como ineficiente. Hoje, inúmeras pesquisas têm demonstrado a eficiência e confiabilidade de preparações à base de plantas medicinais, promovendo a reversão do processo. As plantas medicinais são utilizadas para o tratamento de várias doenças, sendo consideradas terapias de alternativa pela classe médica e por programas oficiais de saúde (BRASIL, 2009).

O Brasil possui uma alta gama de espécies vegetais nativas que são consideradas medicinais (por possuir atividade biológica), porém poucas passaram por uma avaliação científica do seu uso, o que é essencial para comprovação de segurança para uso terapêutico da população (BARBOSA-FILHO, 2005; STEFANELLO, 2006).

O Brasil com cerca de 60 mil espécies de plantas,

possui alto potencial para novos fármacos e produtos farmacêuticos. Em relação aos 50 anos de pesquisa com plantas medicinais no país, o número de espécies estudadas é baixo (DI STASI, 1996; CARVALHO, 2010). São plantas medicinais aquelas que possuem substâncias utilizadas com finalidade terapêutica, ou que sejam ponto de partida para a síntese de produtos químicos e farmacêuticos. A comprovação da eficácia terapêutica de constituintes químicos obtidos a partir de plantas impulsiona novas pesquisas em busca de espécies que apresentem atividade biológica (DIAS, 2006).

A família Fabaceae (ou Leguminosae) é tradicionalmente dividida em três subfamílias (Caesalpinioideae, Faboideae e Mimosoideae), apresenta cerca de 619 gêneros e 17.815 espécies (JUDD, 1999). É a terceira maior família botânica, possuindo uma grande importância econômica.

O gênero *Bauhinia*, popularmente conhecidas como pata-de-vaca, unha-de-vaca, entre outras denominações, possui aproximadamente 300 espécies e característica pantropical, pertence à família Fabaceae, e no Brasil 200 espécies nativas foram catalogadas. As espécies de *Bauhinia* são detentoras de uma variedade de benefícios à saúde

(devido suas propriedades medicinais). As folhas, caules e raízes das espécies de *Bauhinia*, especialmente *Bauhinia manca*, *B. megalandra*, *B. rufescens*, *B. forficata*, *B. cheitantha*, *B. racemosa* e *B. splendens* são amplamente utilizadas no Brasil e em outros países em forma de chás e outras preparações fitoterápicas para o tratamento de várias enfermidades (MENEZES, 2007).

As plantas do gênero *Bauhinia* vêm despertando grande interesse da comunidade científica uma vez que estudos fitoquímicos possibilitaram a identificação de um marcador químico, denominado kaempferitrina, presente somente nas folhas, e que contribui para explicar a atividade hipoglicemiante agregada para a espécie em questão (PIZZOLATTI, 2003; MENEZES, 2007; ENGEL, 2008).

A infusão das folhas de *Bauhinia forficata* é utilizada na medicina popular brasileira como agente diurético, hipoglicemiante, tônico, depurativo, no combate à filariose linfática (elefantíase) e na redução da glicosúria (MARTINS, 1998; PIZZOLATTI, 2003). Mesmo sendo destacada há muito tempo a atividade hipoglicemiante desta espécie, poucos estudos conseguiram atribuir valores significativos em relação a sua atividade biológica, deixando espaço também para questões como da utilização de outra parte da planta que possa ter metabólitos secundários de alto valor. O gênero *Bauhinia* é caracterizado pelo acúmulo de flavonóides livres e glicosilados (SILVA, 2000; PIZZOLATTI, 2003).

Os metabólitos secundários (ou produtos naturais) possuem atividades biológicas importantes, muitos são de grande valor comercial tanto na área farmacêutica quanto nas áreas alimentícia, agrônômica e cosmética. Do ponto de vista farmacêutico, o maior interesse é o número elevado de substâncias farmacologicamente importantes (SIMÕES, 2001). Sendo que a pesquisa fitoquímica, tem por objetivo conhecer os constituintes químicos de espécies vegetais ou avaliar sua presença, logo identificar e extrair os produtos naturais de maior interesse (SIMÕES, 2010).

A *Bauhinia forficata* Link (Pata-de-vaca) mesmo sendo uma espécie que possui grande número de estudos, possui particularidades que devem ser consideradas, como sua caracterização fenotípica que varia de região para região, bem como, alterações sazonais que diferenciam espécies, muitas vezes tornando algumas produtoras de metabólitos secundários importantes enquanto outras não, ou seja, “falsas” patas-de-vaca (ENGEL, 2008).

Além de evidenciar quais compostos presentes nos extratos vegetais possuem atividade biológica, deve-se analisar o possível efeito tóxico desses componentes do extrato. Sendo assim, o Ensaio de Letalidade com o microcrustáceo marinho *Artemia salina* Leach, permite avaliar a toxicidade aguda do mesmo ao extrato vegetal. Ele é considerado um bioensaio preliminar no estudo de extratos e produtos de origem natural com potencial biológico. Esse teste é viável devido à semelhança dos limites dos efeitos tóxicos produzidos em *A. salina* Leach com aqueles produzidos no homem (AMARAL; NASCIMENTO, 2008).

Inúmeros grupos de produtos naturais possuem atividade antimicrobiana, sendo assim é necessária à avaliação frente a bactérias de patogenicidade elevada, para que se possa comprovar tal atividade. Desse modo, o teste de difusão em ágar, também chamado de difusão em placas, é um método físico, no qual um microrganismo é desafiado contra substâncias biologicamente ativas (extrato vegetal) em meio de cultura sólido. Relaciona-se o tamanho do halo de inibição de crescimento do microrganismo desafiado com a atividade antimicrobiana das substâncias testadas (PINTO, 2003; OSTROSKY, 2008).

O presente estudo teve como objetivo a prospecção fitoquímica, avaliação da citotoxicidade (CL₅₀) e atividade antimicrobiana das cascas do caule da *Bauhinia forficata* Link.

2. Material e Métodos

Material Vegetal

A espécie vegetal (*Bauhinia forficata* Link) foi coletada no município de Pedra Branca do Amapari - AP, sua exsicata foi catalogada por especialista da área, Dra. Wegliane Campelo da Silva Aparício, no Herbário da Universidade Federal do Amapá (HUFAP), nº da exsicata: 430.

Preparo, secagem do material vegetal e obtenção do extrato etanólico

O material vegetal foi seco em estufa à aproximadamente 45°C pelo período de dois dias, posteriormente moído em moinho de faca. Após secagem e moagem foi obtido o pó das cascas do caule da espécie. Foi utilizado 800g deste pó para ser submetido ao método de extração por percolação, onde o mesmo ficou em contato com 10 litros de etanol durante dois dias, após esse período houve a filtração e a concentração em rotaevaporador, retirando-se o solvente e obtendo o extrato bruto etanólico (EBE).

Análise fitoquímica preliminar

A análise fitoquímica foi realizada no extrato bruto etanólico das cascas do caule da *Bauhinia forficata* Link visando à identificação dos principais metabólitos secundários presentes na mesma. Com o EBE foram realizados os seguintes testes para: flavonóides, ácidos orgânicos, fenóis e taninos, esteróides e triterpenóides, depsídeos e depsídonas, alcalóides, açúcares redutores, polissacarídeos, saponinas, resinas e antraquinonas, de acordo com a metodologia descrita por Matos (1997) apud Rodrigues (2010).

Toxicidade em *Artemia salina* Leach

O teste de citotoxicidade com *Artemia salina* (BST-Brine Shrimp Test) é utilizado frequentemente como teste de triagem para extratos bioativos de plantas medicinais e incorporado como importante e econômico método de toxicidade à pesquisa fitoquímica.

Os testes de bioensaio de toxicidade com *Artemia salina*

são válidos, pois os efeitos produzidos por um composto nos animais de laboratório são aplicáveis ao ser humano. Fazendo-se necessário apenas a correção matemática da dose por unidade de superfície corporal. Os efeitos tóxicos no homem estão aproximadamente nos mesmos limites que os observados nos animais de pesquisa utilizados em laboratório (AMARAL, 2008).

Foi estabelecida uma relação entre o grau de toxicidade e a dose média letal ou concentração letal em 50%, CL_{50} , apresentada por extratos de plantas sobre cistos em tempo médio de vida (metanúplios) de *A. salina*, desde então, considera-se que quando são verificados valores acima 1000 $\mu\text{g/mL}$, estes, são considerados atóxicos. (NASCIMENTO, 2008).

Os ensaios foram realizados em triplicata, buscando-se a determinação da relação dose-resposta. Houve um grupo controle, apenas com a solução marinha artificial, e os grupos teste, água do mar artificial com EBE da *B. forficata* Link nas concentrações de 1000, 750, 500, 300, 100, 30, 10, 3 e 1 $\mu\text{g/mL}$. Em cada tubo foram colocadas dez larvas de *Artemia salina* L., incluindo no grupo controle, sendo completado até o volume final de 1 mL com solução marinha artificial. Após a incubação por 24 horas, foram contabilizados os números de mortos e vivos e calculada a concentração letal média (CL_{50}), determinada pelo programa estatístico BioEstat 5.0 método de regressão linear (AYRES, 2007).

Análise antimicrobiana

Para o teste microbiológico, foi utilizada a metodologia de difusão em disco segundo o método de Kirby-Bauer modificado, apud Hentz e Santin (2007). Para o presente teste utilizou-se as seguintes bactérias: *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883), *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

A partir do crescimento das bactérias em meio de cultura caldo BHI (Brain Heart Infusion), foi realizado ajuste da turbidez para 0,5 da escala de McFarland, que corresponde a, aproximadamente, 108 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias por mililitro). Após a confirmação da quantidade de colônias, introduziu-se um swab bacteriológico na suspensão bacteriana, deixando-o submerso nessa suspensão por três minutos. Em seguida, este foi pressionado contra a parede do tubo, para que houvesse um esgotamento da suspensão absorvida. Dessa forma, semeou-se, uniformemente, o inóculo sobre toda a superfície de placas contendo meio de cultura Ágar Miller Hinton (MH), Ágar *Salmonella-Shigella* (SS) e Ágar Padrão para Contagem (PCA), todos em duplicata. Após secagem por 3 a 4 minutos, os discos (papel filtro Whatman – tipo 3) impregnados com o extrato bruto etanólico das cascas do caule três concentrações diferentes (25, 50 e 100 $\mu\text{g/mL}$) foram aplicados sobre o ágar. As placas foram invertidas e incubadas à temperatura de 35 $^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 h ± 1 h.

Os discos, de 6 mm de diâmetro, impregnados com cada concentração do EBE das cascas do caule, foram

aplicados sobre as placas com o auxílio de pinça flambada e fria, sendo pressionados para melhor aderir ao meio. A distância entre os discos foi calculada por medição a fim de evitar sobreposição dos halos de inibição.

Foi inserido nas placas, um disco de inibição com concentrações de EBE *B. forficata* Link predeterminadas e alguns antibióticos para o controle positivo.

3. Resultados

Através do screening fitoquímico ou prospecção fitoquímica do extrato etanólico das cascas do caule da espécie *B. forficata* Link foi possível identificar a presença de Flavonóides, Fenóis e Taninos, Depsídeos e Depsidas, Açúcares Redutores e Antraquinonas (Tabela 1).

Tabela 1. Resultados da prospecção fitoquímica do extrato bruto etanólico das cascas do caule de *Bauhinia forficata* Link.

Classe de metabólitos secundários	EBE Cascas do Caule
Flavonóides	+
Ácidos orgânicos	-
Fenóis e Taninos	+
Esteróides e Triterpenóides	-
Depsídeos e Depsidas	+
Saponinas	-
Açúcares redutores	+
Alcalóides	-
Polissacarídeos	-
Derivados de cumarinas	0
Antraquinonas	+
Purinas	-
Resinas	-

Parâmetros usados: (0) Não realizado, (+) Presente, (-) Ausente

4. Discussão

A presença de flavonóides e de outros metabólitos no EBE da *B. forficata* Link é o primeiro passo para que possa se estabelecer sua relação com as várias atividades atribuídas pelas conhecimento tradicional. Alguns medicamentos são elaborados a partir de flavonóides, em particular para o tratamento de doenças circulatórias, hipertensão e agindo como cofator da vitamina C. Outras pesquisas atribuem aos flavonóides com ação antitumoral (inibição da síntese da ornitina Descarboxilase), antiviral (flavonas, flavonóis, chalconas e análogos sintéticos), anti-hemorragicos, hormonais, anti-inflamatórios (como a quercetina, luteolina e 3-O-metilquercetina), antimicrobianos e antioxidantes (SIMÕES, 2010).

A atividade antioxidante dos flavonoides e outros derivados fenólicos são atribuídos devida a capacidade de captura e neutralização de espécies oxidantes como

o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), radical hidroxila ou radical peróxido, atuando por sinergismo com outros antioxidantes como as vitaminas C e E. Alguns flavonóides são capazes de se ligar a íons metálicos, impedindo-os de atuarem como catalizadores na produção de radicais livres. Esta atividade é o resultado de um conjunto de propriedades, tais como atividade quelante de ferro, atividade sequestrante de oxidase, xantina-oxidase e fosfolipase, e estimulação de enzimas com atividade antioxidante como a catalase e a superóxido-dismutase. Assim, os flavonóides podem interferir nas reações de propagação e formação de radicais livres (SIMÕES, 2010).

Sobre a presença de Fenóis e Taninos no EBE da *B. forficata* link, os compostos fenólicos contribuem para o vegetal com o sabor, odor e coloração, sendo que muitos deles são economicamente importantes pela utilização como flavorizantes e corantes de alimentos e bebidas. Já os taninos que possuem a capacidade de precipitarem celulose, pectinas e proteínas, são definidos como substâncias fenólicas solúveis em água com massa 500-3000 Da, que apresentam habilidade de formas complexos insolúveis em água com alcalóides, gelatina e outras proteínas. Essa sua complexação é a base para suas propriedades farmacológica e antimicrobiana (SIMÕES, 2010).

A prospecção fitoquímica atestou presença também do grupo Antraquinonas, pertencente às quinonas, que possui atividade laxante (principal responsável pela utilização das quinonas). Atualmente, a maior parte das especialidades farmacêuticas que contém compostos antraquinônicos, com condição de laxante, consiste em associações de vários extratos vegetais, até mesmo substâncias ativas de origem não-vegetal (SIMÕES, 2010).

As atividades descritas em literatura sobre os metabólitos secundários presentes na espécie corroboram com as atividades alegadas pela população (MENEZES, 2007).

No ensaio de toxicidade, teste de triagem padronizado para plantas medicinais utilizando *Artemia salina*, que se baseia em estabelecimento da concentração letal em 50% (CL_{50}) na relação de concentração de extrato vegetal com o metanúplio, houve morte nas concentrações testadas, logo foi calculado a CL_{50} pelo método de análise regressão linear no programa BioEstat 5.0 (AYRES, 2007). Por esse método realizou-se uma relação do número de mortes dos cistos com as concentrações testadas, resultando na $CL_{50\%}$ de 853,80 $\mu\text{g}/\text{mL}$, quando o limiar de atoxicidade encontra-se em $CL_{50\%}$ com valores a cima de 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (AMARAL, 2008). Logo o EBE das cascas do caule da *B. forficata* Link possui toxicidade na concentração testada, sendo necessários cuidados em relação a sua concentração em formulações, produção de chás, “garrafadas”, logo é necessária uma diluição para evitar essa toxicidade, em caso de comercialização *in*

natura, deve-se informar sobre essa toxicidade, além disso, deve-se realizar outros estudos toxicológicos, como por exemplo, para avaliação de toxicidade reprodutiva.

Em relação à atividade antimicrobiana o EBE das cascas do caule *B. forficata* Link não apresentou halos de inibição (Quadro 1) nas concentrações testadas (25, 50 e 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$) e não inibiu o crescimento das bactérias *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, e *Staphylococcus aureus*, ambas relacionadas a caso de resistência à antibióticos, justificando o uso de cepas desses microrganismos patogênicos, porém o resultado só ratificou que há a necessidade de outros estudos, com novos microrganismos, ou a reavaliação da metodologia, que pode conter erros. O isolamento das substâncias majoritárias do EBE pode melhorar o resultado, já que extrato bruto etanólico possui vários grupos orgânicos, um verdadeiro complexo de substâncias, que podem interagir promovendo ação agonista e antagonista de uma mesma espécie, logo estudos cromatográficos são necessários para uma maior especificidade, realizando-se testes com frações purificadas revelando assim se há atividade antibacteriana frente a esses microrganismos.

Quadro 1. Resultados do Teste de Atividade Antimicrobiana do EBE das cascas do caule de *B. forficata* Link. Halo de Inibição.

Concentrações Testadas	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
25 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0	0	0
50 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0	0	0
100 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0	0	0

5. Agradecimentos

Programa de Educação Tutorial - MEC

6. Referências Bibliográficas

- AMARAL, E. A.; SILVA, R.M.G. Avaliação da Toxicidade Aguda de Angico (*Anadenanthera falcata*), Pau-Santo (*Kilmeyera coreacea*), Aroeira (*Myracrodruon urundeuva*) e Cipó-de-São-João (*Pyrostegia venusta*), por meio do bioensaio com *Artemia salina*. Perquirêre - Revista Eletrônica da Pesquisa, v. 5, n. 5, 2008.
- AYRES, M.; AYRES, J. M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S.; Bioestat 5.0. Aplicações estatísticas das áreas das ciências biológicas e médicas. Belém; Sociedade Civil Mamirauá; p.364, 2007.
- BÁRBARA, B.S. et al. Análise Fitoquímica de duas Espécies do Gênero *Bauhinia* e Comparação Farmacológica de Seus Efeitos Hipoglicemiantes. *Revista Iniciação Científica*, v. 2006-2007, p. 46-59, 2007.
- BARBOSA, W.L.R. **Etnofarmácia: Fitoterapia Popular e Ciência Farmacêutica**. Curitiba-PR. CRV. 2011.
- BARBOSA-FILHO, J.M. et al. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v.15, p. 392-413, 2005.
- BRASIL. Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília – Distrito Federal. p.136, 2009.
- CAMARGO, M.T.L.A. Amansa-Senhor: a arma dos negros contra seus senhores. *Revista Pós Ciências Sociais*, v. 4, n. 8, 2007.

- CARVALHO, A. C. A. Economia dos produtos florestais não-madeireiros no Estado do Amapá: sustentabilidade e desenvolvimento endógeno. 174 f. Tese de Doutorado - **Núcl. de Alt. Estud. Amaz.**, Universidade Federal do Pará. Belém. 2010.
- CARVALHO, L. M.; COSTA, J. A. M.; CARNELOSSI, M. A. G. **Qualidade em plantas medicinais**. **Embrapa Tab. Cost.**, 2010. 54p. Disponível em <http://www.cpatc.embrapa.br/publicacoes_2010/doc_162.pdf>. Acesso em: 15.12.2013.
- DI STASI, L. C. **Plantas medicinais: arte e ciência: um guia de estudo interdisciplinar**. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, p.230. 1996.
- DIAS, J.F.G. et al. Atividade antibacteriana e antifúngica de extratos etanólicos de *Aster lanceolatus* Willd., Asteraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 16, n.1, p. 83-87, 2006.
- ENGEL, I.C. et al. 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.
- HENTZ, S.M.; SANTIN, N.C. Avaliação da atividade antimicrobiana do óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) contra *Salmonella* sp. **Evidência**. v. 7, n. 2, p. 93-100, 2007.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A. & STEVENS, P.F. 1999. *Plant Systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland.
- KHALIL, N.M. Free Radical Scavenging Profile and Myeloperoxidase Inhibition of Extracts from Antidiabetic Plants: *Bauhinia forficata* and *Cissus sicyoides*. **Biological Research**, v. 41, p. 165-171, 2008.
- MARTINS, R. E. et al. **Plantas Mediciniais**, Ed. UFV : Viçosa, p. 155, 1998.
- MENEZES, F.S. Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 17, n. 1, p. 08-13, 2007.
- MEYER, B.N. et al. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medicinal**. v. 45, p. 31-34, 1982.
- NASCIMENTO, J. E. et al. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de *Artemia salina* Leach. De três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (*Phyllanthaceae*). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 29, p. 143-148, 2008.
- OSTROSKY et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.
- PAULA, K.B.S.; CRUZ-SILVA, C.T.A. Formas de uso medicinal da babosa e camomila pela população urbana de Cascavel, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 32, n. 2, p. 169-176, 2010.
- PIZZOLATTI, M.G. Flavonóides Glicosilados das Folhas e Flores de *Bauhinia Forficata* (Leguminosae), **Química Nova**, v.26, n.4, p. 466-469, 2003.
- RODRIGUES, K.A.F. et al. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica charantia* L. **Cadernos de Pesquisa**, v. 17, n. 2, 2010.
- SILVA, K. L. et al. **Naturforsch.** v. 55, p. 478, 2000.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2ª edição. Editora Universidade/UFRGS. Porto Alegre. 2001.
- SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5ª edição. Editora Universidade/UFRGS. Porto Alegre. 2010.