



FABRÍCIA APARECIDA ZARA

**AVALIAÇÃO BIOLÓGICA ANTIMICROBIANA e ANTIOXIDANTE DAS
FLORES DE *Bauhinia variegata*.**

**INCONFIDENTES – MG
OUTUBRO – 2017**

FABRÍCIA APARECIDA ZARA

**AVALIAÇÃO BIOLÓGICA ANTIMICROBIANA e ANTIOXIDANTE DAS
FLORES DE *Bauhinia variegata*.**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como pré-requisito para conclusão do curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais Campus Inconfidentes, para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Wallace Ribeiro Corrêa

**INCONFIDENTES – MG
OUTUBRO – 2017**

FABRÍCIA APARECIDA ZARA

**AVALIAÇÃO BIOLÓGICA ANTIMICROBIANA E ANTIOXIDANTE
DAS FLORES DE *Bauhinia variegata*.**

Data de aprovação: 18 de Outubro de 2017

Prof. Dr. Wallace Ribeiro Corrêa
IFSULDEMINAS, *Campus* Inconfidentes
Professor Orientador

Prof. MSc. Verônica Soares de Paula Morais
IFSULDEMINAS, *Campus* Inconfidentes

Prof. Ms. Eduardo de Oliveira Rodrigues
IFSULDEMINAS, *Campus* Inconfidentes

À Deus e aos meus pais, dedico...

Agradecimentos

Aos meus pais, agradeço imensamente por me apoiarem e estarem sempre ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Ao professor orientador Dr. Wallace Ribeiro Corrêa, pela oportunidade, atenção e por compartilhar e doar um pouco de seus conhecimentos. Meus mais sinceros agradecimentos.

Ao professor Laércio Loures, pelo compartilhamento de sua sabedoria em relação às plantas.

Ao professor MsC. Nilton Luiz Souto, pelo apoio, atenção e orientações metodológicas no decorrer do trabalho.

Aos membros da banca, pelas considerações e disponibilidade.

As companheiras de laboratório Suelen, Roberta, Tamires, Ana Carla pelo companheirismo e espírito de equipe. Desejo sinceramente sucesso a todas.

A grande amiga Claudinéia Paiva colega de curso e companheira de laboratório, pela amizade e colaboração ao longo de toda esta caminhada. Agradeço e desejo muito sucesso e felicidades.

A todos os professores do IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes/MG que contribuíram e apoiaram toda minha formação acadêmica ao longo do curso.

Aos colegas de classe, pelo companheirismo ao longo de todo o curso. Desejo sucesso a todos!

Ao IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes/MG pela formação acadêmica.

A Universidade Estadual de Campinas/SP que contribuiu para a realização deste trabalho.

A todos que participaram desta trajetória.

“Não há plantas boas para comida que não o sejam também para cura. O excesso é que causa problemas.”

Umberto Eco

Resumo

A Pata de Vaca, *Bauhinia variegata* Link. (Fabaceae), é uma espécie vegetal nativa da Índia amplamente cultivada devido seu caráter ornamental, porém suas potencialidades medicinais são pouco estudadas. O presente trabalho objetiva relatar a capacidade medicinal antimicrobiana, antioxidante e demonstrar a importância dos estudos com esta espécie destacando uma nova parte da planta a ser analisada, as flores. Para isto foram coletadas flores brancas e roxas separadamente, que foram processadas e deram origem a dois extratos brutos etanólicos os quais foram submetidos ao teste antimicrobiano com oito linhagens de bactérias por meio do método de microdiluição para a determinação de seu potencial antimicrobiano, posteriormente foram feitas análises para obter informações acerca de sua eficiência no combate a radicais livres e quantificação de fenólicos totais utilizando os métodos DPPH e Folin-Ciocalteu respectivamente. Por fim foram observadas substâncias possivelmente bioativas através de espectrometria de massas (ESI-MS). Para os testes antimicrobianos houve resultados positivos em metade das linhagens utilizadas, evidenciando o potencial inibitório da planta estudada. Nas análises antioxidantes foi observado um grau satisfatório de eficiência correlacionado ao teor de fenólicos totais. Desta forma pode-se concluir que as flores de *B. variegata* apresentam potencial medicinal, podendo contribuir para futuras prospecções.

Palavras-chave: Pata de vaca, Potenciais medicinais, Atividade antimicrobiana, Atividade antioxidante, Espectrometria de massas.

Abstract

Pata de Vaca, *Bauhinia variegata* Link. (Fabaceae) is a native plant species to Índia widely cultivated owing to its ornamental character, however yours medicinal potential are few studied. The purpose of this study is to report the medicinal capacity antimicrobial, antioxidant and demonstrate the importance of the studies about this specie highlighting a new part of the plant to be analyzed, the flowers. For this were collected white and purple flowers separately, which were processed and resulted in two crude ethanolic extracts which were submitted to the antimicrobial test with eight strains of bacteria by means of the microdilution method for the determination of your antimicrobial potential, posteriorly analyzes were performed for information about combat effectiveness against free radicals and quantification of total phenolics using the DPPH and Folin-Ciocalteu method respectively. Lastly potentially bioactive substances were observed through mass spectrometry (ESI-MS). For the antimicrobial tests there were positive results in half of the strains used, evidencing the inhibitory potential of the studied plant. In the antioxidant analyzes a satisfactory degree of efficiency correlated with the total phenol content was observed. This way it can be concluded that *B. variegata* flowers have medicinal potential, contributing to future prospecting.

Keywords: Pata de Vaca, Medicinal potential, Antimicrobial activity, Antioxidant activity, Mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Flor de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....19
- Figura 2** - Flor de *Bauhinia variegata* var. *candida* IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....19
- Figura 3** - Porcentagem de inibição do radical DPPH pelos extratos brutos etanólicos de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....27
- Figura 4.** *Fingerprint* obtido por meio de ESI-MS, em modo positivo, dos extratos brutos de *Bauhinia variegata* var. *candida* . IFSULDEMINAS - Camous Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....30
- Figura 5.** *Fingerprint* obtido por meio de ESI-MS, em modo negativo, do extrato bruto etanólico de *Bauhinia variegata* var. *candida*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....31
- Figura 6.** *Fingerprint* obtido por meio de ESI-MS, em modo positivo, do extrato bruto etanólico de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....32
- Figura 7.** *Fingerprint* obtido por meio de ESI-MS, em modo negativo, do extrato bruto etanólico de *Bauhinia variegata* var. *Purpurea*. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....33

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Atividade antibacteriana do extrato bruto etanólico (EBE) das flores brancas e roxas de *Bauhinia variegata*, expressa em termos de concentração biocida mínima, (CBM mg/ml), determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....25

Tabela 2. Capacidade antioxidante, pelo ensaio DPPH, dos extratos brutos etanólicos das flores de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes..Inconfidentes/MG, 2017.....28

Tabela 3. Conteúdo fenólico presente nos extratos brutos etanólicos de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS - *Campus* Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.....28

Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	12
2. REVISÃO DE DE LITERATURA.....	14
2.1. Plantas medicinais e fitoterapia.....	14
2.2. Família Fabaceae.....	16
2.3. Gênero <i>Bauhinia</i>	17
2.4. Espécie <i>Bauhinia variegata</i>	18
3. METODOLOGIA.....	20
3.1. Coleta do material vegetal.....	20
3.2. Obtenção do extrato bruto etanólico.....	20
3.3. Ensaio para a avaliação da atividade antimicrobiana.....	21
3.4. Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante DPPH.....	21
3.5. Ensaio para a avaliação antioxidante Folin-Ciocalteu.....	22
3.6. Análise preliminar do extrato bruto etanólico por espectrometria de massas com injeção direta e ionização por eletrospray (ESI-MS).....	22
3.7. Análise estatística.....	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	24
4.1. Avaliação antimicrobiana.....	24
4.2. Avaliação da atividade antioxidante.....	26
4.2.1. Avaliação da atividade antioxidante DPPH.....	26
4.2.2. Avaliação da atividade antioxidante Foli-Ciocalteu.....	28
4.3. Espectrometria de massas com injeção direta e ionização por eletrospray (ESI-MS).....	29
5. CONCLUSÃO.....	35
6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO.....	36

1. INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais remete á tribos primitivas onde as mulheres eram encarregadas de extrair os princípios ativos dos vegetais para utiliza-los na cura de enfermidades. No decorrer do tempo, quando estes povos se tornaram mais habilitados para suprir suas necessidades de sobrevivência, foram estabelecidos papéis sociais específicos para os membros dos grupos em que viviam. O primeiro desses papéis sociais foi o do curandeiro, que desenvolveu uma gama de substâncias e conhecimentos terapêuticos que guardava com cuidado, transmitindo seletivamente para indivíduos bem preparados (SIMON D. 2001).

Com o surgimento da química experimental, foi possível a composição laboratorial de novas substâncias. Fato este que fez com que os médicos dessem maior preferência aos compostos sintéticos e desprestigiassem a importância da fitoterapia. Contudo, a terapia das plantas permite ao homem que se associe novamente a natureza para o auxílio da retomada de funções corporais prejudicadas pelas diversas doenças existentes (FRANÇA *et al.*, 2008).

Nos dias atuais, a medicina das plantas é mais difundida entre os camponeses. Em zonas urbanas a população faz uso desta prática com mais cautela para se resguardar das críticas, visto que tal técnica é controlada pela medicina tradicional e está sujeita a muitos julgamentos.

Posto que os princípios naturais estão cada vez mais sendo associados aos sintéticos, se faz de grande valia os estudos dos fitoterápicos para o esclarecimento de seus ganhos e de suas desvantagens e assim o melhor aproveitamento dos conhecimentos populares somados aos científicos (VALE, 2002). Estudos com extratos brutos da espécie *Bauhinia variegata* estão sendo promissores, tomando como exemplo as pesquisas relacionadas neste trabalho. Assim, para uma melhor compreensão deste assunto, vale esclarecer que são definidos extratos as preparações de consistência líquida, sólida ou intermediária obtida a partir de material vegetal ou animal e

pode ser preparado a partir de percolação, maceração ou outro método adequado e validado utilizando como solvente álcool etílico, água ou outro solvente adequado (ANVISA, 2011).

Nesta perspectiva, os estudos com a espécie *Bauhinia variegata* ainda são bastante escassos. A espécie é bastante conhecida pelo seu potencial ornamental, mas suas potencialidades medicinais ainda são pouco exploradas. Tendo em vista esta situação surgiu a necessidade deste estudo com o objetivo de avaliar as atividades antioxidantes e antimicrobianas dos extratos brutos de flores roxas e brancas de *Bauhinia variegata*. Coloca-se em questão, portanto, se os extratos brutos possuem substâncias bioativas eficientes no combate a bactérias e radicais livres.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PLANTAS MEDICINAIS E FITOTERAPIA

Segundo a ANVISA (2011), denomina-se como droga vegetal a planta medicinal ou seus componentes que envolvam as substâncias que promovem o efeito medicamentoso, após os procedimentos de colheita, estabilização, quando necessário, e secagem sendo capaz de estar em formato inteira, raspada, fragmentada ou pulverizada. Ainda de acordo com o mesmo formulário, fitoterápicos são produtos adquiridos a partir de plantas medicinais ou de seus originários com fins preventivos, curativos ou atenuantes com exceção de substâncias isoladas.

Dentro da história, a humanidade sempre recorreu à natureza para melhorar suas necessidades de sobrevivência. Neste contexto as plantas foram primeiramente incorporadas na alimentação e após na busca de matéria-prima para a confecção de roupas, ferramentas, armas de caça, combustível para o fogo, etc., atendendo assim seu objetivo de melhorar a subsistência. Através de muitas experimentações e observações à base de tentativas e erros percebeu-se que as plantas poderiam manifestar efeitos benéficos no organismo. Foi notado também que além das plantas benéficas existiam aquelas perigosas à saúde capazes de matar e produzir alucinações. No delongar do tempo muitas civilizações descreveram sobre o uso da fitoterapia em seus registros (BEVILACQUA, 2010).

O primeiro registro de uso da fitoterapia no Brasil foi feito por Gabriel Soares de Souza quando escreveu o Tratado Descritivo do Brasil em 1587. Este documento relatava os produtos medicinais usados pelos indígenas como “as árvores e ervas da virtude” e com a chegada dos

primeiros médicos portugueses e a percepção da falta de remédios tradicionais na colônia, verificou-se a importância das plantas usadas pelos indígenas na forma de tratamentos das doenças (VEIGA, 2002). Atualmente 70% dos medicamentos são feitos a partir das plantas. Nesse contexto, no Brasil, ainda há muito a ser estudado visto que o país possui cerca de 55 mil espécies vegetais e abriga a maior biodiversidade do planeta, porém a quantidade de produtos com ativos dessas espécies é bastante reduzida. Além de que esta riqueza é alvo de biopirataria e patenteamento de vários medicamentos por parte de outros países (TUPIASSÚ; CARDOSO, 2010)

As plantas são, em vários momentos, o único ou o mais acessível recurso para tratamento de moléstias em populações mais pobres como foi observado por Edirisinghe (1987). Porém, como alerta Honda (2010), algumas demandas devem estar bem entendidas nas ações com plantas medicinais, iniciando com o reconhecimento correto da doença sucedido da identificação adequada da planta a ser empregada tal como a compreensão de sua manipulação e utilização apropriada, abrangendo a averiguação do processamento experimentado pela planta, assegurando desta forma a influência do pretendido princípio ativo. Ainda segundo Haraguchi (2010) é de grande importância atentar aos cuidados no plantio e boas práticas sanitárias e de manejo de plantas medicinais para garantir a qualidade e segurança das mesmas.

Em termos legislativos, no Brasil, o uso de plantas medicinais e fitoterápicos tem respaldo na Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), aprovada pelo governo federal através do decreto nº 5.813, de 22 de Junho de 2006, que gerou o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos aprovado pela Portaria Interministerial nº 2960 de 9 de Dezembro de 2008, criando assim o Comitê Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. O procedimento de criação do Programa Nacional de Plantas Medicinais (2009) e Fitoterápicos encontrou fundamentos na Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, que por sua vez estabeleceu como conceitos orientadores a amplificação das alternativas de tratamento aos usuários do Sistema Único de Saúde (SUS), a utilização sustentável da biodiversidade brasileira, reconhecimento e perpetuação dos saberes dos povos tradicionais, revigoramento da agricultura familiar, crescimento da tecnologia e indústria, integração social, diminuição das desigualdades sociais e participação social. Aguarda-se que a incorporação eficiente da fitoterapia no SUS, possibilitando a melhoria do sistema e maior acesso a esses medicamentos assegurando desta forma a promoção dos conceitos básicos do SUS.

Portanto, conforme diz o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (2009), ficou decidido que este se propõe a otimizar o símbolo padronizante sanitário e ambiental em todas as fases da rede produtiva de plantas medicinais e fitoterápicos, proporcionar a adesão de bons hábitos de manuseio, plantio, manipulação e produção de plantas medicinais e fitoterápicos baseando-se em referências e experiências científicas e tecnológicas existentes no Brasil e em outros países, aprimorar recursos de incentivo à pesquisa, tecnologias e inovações, nas várias etapas da rede produtiva, otimizar a formação técnico científica dos trabalhadores que operam no setor de plantas medicinais e fitoterápicos e ainda agregar plantas medicinais e fitoterápicos no SUS com segurança, eficiência e qualidade. Dessa maneira, a Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária na Resolução-RDC N° 14 de 31 de Março de 2010 regulamenta e estabelece os requisitos mínimos para o registro de medicamentos fitoterápicos.

2.2. FAMÍLIA FABACEAE

Composta por ervas, arbustos ou lianas com ou sem gavinhas possuindo alto metabolismo de nitrogênio e aminoácidos incomuns, constantemente com nódulos radiculares contendo bactérias fixadoras de nitrogênio (*Rhizobium*), ocasionalmente com cavidades ou canais secretores em geral com a presença de taninos, frequência de alcalóides, às vezes com compostos cianogênicos e em geral também com grãos de amido (JUDD *et al.*, 2009).

Fabaceae possui ampla distribuição, incluindo cerca de 650 gêneros e aproximadamente 19000 espécies, representando uma das maiores famílias de Angiospermas e também uma das principais do ponto de vista econômico (SOUZA; LORENZI, 2012). É considerada a maior família no Brasil, com 2100 espécies e 188 gêneros, dos quais 31 são endêmicos, estando representada em todos os biomas brasileiros (LIMA, 2000).

Destacam-se como espécies principais aquelas utilizadas na alimentação, especialmente o feijão (*Phaseolus vulgaris*), a soja (*Glycine max*), o amendoim (*Arachis hypogaea*), a ervilha (*Pisum sativum*), o tremoço (*Lupinus spp.*), o grão de bico (*Cicer arietinum*) e o tamarindo (*Tamarindus indica*) (SOUZA;LORENZI, 2012). Quanto a espécies ornamentais constam nos gêneros *Acacia*, *Albizia*, *Bauhinia*, *Caliandra*, *Cassia*, *Cercis*, *Cytisus*, etc., (JUDD *et al.*, 2009).

Para a família, são reconhecidas três subfamílias: Caesalpinoideae, Mimosideae e Papilionoideae (Faboideae), classificadas na ordem Fabales, apesar de algumas literaturas

seguirem outros autores que consideram em nível de famílias as Casealpiniaceae, Mimosaceae e Fabaceae (BORTOLUZZI *et al.*, 2006). Caesalpinoideae se caracteriza por árvores, arbustos, subarbustos ou lianas com estípulas foliáceas ou não, algumas vezes modificadas em espinhos, permanentes ou caducas (TOZZI, 2016). Segundo Lewis *et al.* (2005) Casealpinoideae compreende quatro tribos (Cercideae, Detarieae, Cassieae e Caesalpineae), 179 gêneros e 2250 espécies amplamente distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo.

Classificada como grupo irmão do restante das leguminosas, a tribo Cercideae abriga um dos maiores gêneros de Caesalpinoideae, *Bauhinia*. A categorização mais atual considera 23 gêneros com aproximadamente 335 espécies e se diferencia da tradicional pelo reconhecimento de outros 8 gêneros integrados anteriormente na circunscrição de *Bauhinia*. Nacionalmente, a tribo está representada pelos gêneros *Bauhinia*, *Phanera* e *Schinella*, com 57, 24 e 8 espécies, respectivamente (VAZ 2016). Segundo Tozzi (2016), a tribo Cercideae caracteriza-se por árvores, arbustos ou lianas com ramos inertes, aculeados ou ocasionalmente espinercentes, as gavinhas estão presentes em lianas ou arbustos escandentes ou ausentes.

No que se refere à outras subfamílias, Lewis *et al.* (2005) afirmam que Mimosideae possui cerca de 3270 espécies circunscritas em quatro tribos: Mimoseae, Mimozygantheae, Acacieae e Ingeae, compreendendo 78 gêneros. Papilionideae ou Faboideae possui 430 gêneros e cerca de 12600 espécies de grande distribuição mundial. É considerada a subfamília mais desenvolvida dentre as leguminosas, e também a de maior importância econômica (GAIAD; CARVALHO, 2015).

2.3. GÊNERO *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia* foi uma homenagem feita por Carolus Linnaeus aos irmãos Jean Bauhin (1541-1613) e Gaspard Bauhin (1550-1624), médicos e botânicos suíços (FORTUNATO, 1986). Várias espécies pertencentes ao gênero *Bauhinia*, da família Fabaceae, muitas vezes são denominadas popularmente de pata-de-vaca ou unha-de-vaca, devido ao formato das folhas (HONDA, 2010). Referente a distribuição geográfica e número de espécies, Salatino *et al.* (1999) afirmam que se trata de um gênero pantropical com cerca de 250 a 300 espécies.

De acordo com Vaz e Tozzi (2016), este gênero exibe como particularidades árvores de portes pequenos a medianos até arbustos com gavinhas ausentes, folhas bilobadas a bipartidas, flores com pétalas semelhantes, estames livres ou conatos e legumes com deiscência elástica.

As espécies deste gênero possuem uma gama de efeitos benéficos para a saúde. Folhas, caules e raízes destas plantas são muito utilizadas no Brasil e em outros países em preparações fitoterápicas como, por exemplo, chás para o tratamento de várias doenças. As espécies mais utilizadas para esta finalidade são *Bauhinia manca*, *Bauhinia megalandra*, *Bauhinia rufescens*, *Bauhinia forficata*, *Bauhinia cheitantha*, *Bauhinia racemosa* e *Bauhinia splendens* (MENEZES, 2007).

Análises fitoquímicas e farmacológicas apontam que as espécies deste gênero são compostas, em maioria, de glicosídeos esteroídicos, triterpenos, lactonas e flavonóides. Entre as espécies mais pesquisadas fitoquimicamente, podemos mencionar *Bauhinia manca*, *Bauhinia candicans*, *Bauhinia uruguayensis*, *Bauhinia purpurea*, *Bauhinia forficata* e *Bauhinia splendens*. No gênero, pode-se encontrar uma grande diversidade de compostos esteroídicos, terpenóides e flavonóides. Contudo, ainda que muitos compostos sejam conhecidos, pouco se sabe a respeito das atividades farmacológica (SILVA E CECHINEL, 2001).

2.4. ESPÉCIE *Bauhinia variegata*

Árvore nativa da Índia com alturas entre 7 e 10 metros, extensamente cultivada em todo o território em consequência de seu caráter ornamental (LORENZI *et al.*, 2003; (DUARTE ALMEIDA *et al.*, 2004). Segundo Domingos e Júnior (2016), a espécie apresenta duas variedades muito difundidas no Brasil, *Bauhinia variegata* var. *purpurea* e *Bauhinia variegata* var. *candida*. A primeira variedade possui pétalas cor-de-rosa estriadas onde a superior é diferenciada por seu tamanho maior e manchas púrpura e a segunda variedade possui flores brancas.

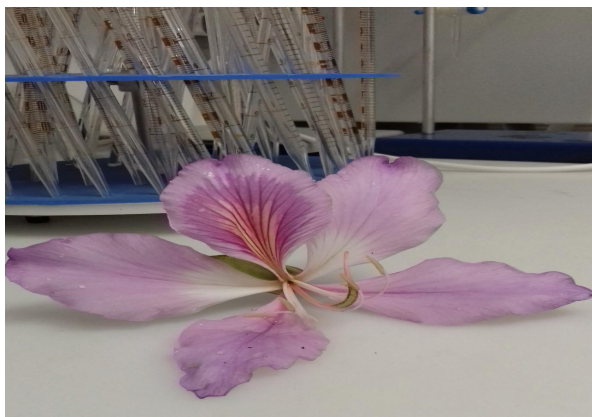


Figura 1. Flor de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*. IFSULDEMINAS- Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017. Fonte: autora.



Figura 2. Flor de *Bauhinia variegata* var. *candida*. IFSULDEMINAS- Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017. Fonte: autora.

Em ambientes exóticos, Zamproni *et al.* (2014) observaram que o período de floração de *Bauhinia variegata* ocorre entre Junho e Outubro com um período de dois meses e meio de flores aberta, a frutificação acontece entre os meses de Outubro e Janeiro havendo dispersão de sementes e a presença foliar é constante ao longo de todos os meses. Em termos fitoquímicos, os flavonóides presentes nesta espécie constituem um importante grupo químico de interesse (YADAVA e REDDY, 2001; YADAVA e REDDY, 2003).

3. METODOLOGIA

3.1. COLETA DO MATERIAL VEGETAL

Flores brancas (*Bauhinia variegata* var. *candida*) e rosadas (*Bauhinia variegata* var. *purpurea*) de *Bauhinia variegata* foram coletadas na fazenda-escola do Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS) no mês de Setembro durante o período de floração da espécie. Laércio Loures, professor e botânico realizou a identificação botânica da espécie. Todo material coletado foi acondicionado, separando as flores brancas das rosadas, em sacos plásticos de 20 litros e encaminhado ao Laboratório de Biociências (IFSULDEMINAS) - Campus Inconfidentes. As flores foram separadas de suas respectivas sépalas, lavadas em água corrente de forma manual e acondicionadas de forma separada em recipientes com água destilada.

3.2. OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO

Após o processo de estabilização e secagem em estufa de ar circulante à temperatura de 40°C, as flores brancas e roxas de *Bauhinia variegata* foram pulverizadas separadamente em moinho de faca (MERSE - A11 basic). Os pós obtidos foram pesados, acondicionados em Erlenmeyer e submetido ao processo de maceração com solvente orgânico, etanol, na proporção massa de pó/solvente 1:30 (massa/volume). O solvente foi removido em evaporador rotatório, sob pressão reduzida, em banho-maria a 60°C, obtendo-se assim o extrato bruto etanólico de *B. variegata* var. *purpurea* e de *B. variegata* var. *candida*. Os extratos foram armazenados em frascos âmbar lacrados e acondicionados em refrigerador.

3.3. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

3.3.1. Frente a bactérias

No laboratório de Biociências, foram realizados os ensaios de atividade antimicrobiana, as concentrações biocidas mínimas (CBM), que foram determinadas utilizando-se o método de microdiluição em placas de 96 poços, seguindo adequação descrita por Salvador (2005). Para a execução dos ensaios foram utilizadas bactérias gram-positivas e gram-negativas. Sendo elas bactérias gram-negativas: *Salmonella typhimurium* (Ct)^b e gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458)^a, *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)^a, *Staphylococcus aureus* 8-, *Staphylococcus aureus penicillinase +7*, *Bacillus subtilis* (Ct)^b, *Staphylococcus epidermidis* (12228)^a e *Kocuria rhizophila* (9341)^a.

As bactérias foram cultivadas em meio Müller Hilton (MH), em placas de 20x150 mm, 24 horas antes da inoculação nas placas. Para a montagem da placa foram utilizados 50 microlitros (μL) de meio Tryptone Soya Broth (TSB) em todos os poços, 50 μL da droga teste preparada em propilenoglicol (1:19) nas concentrações de 0,125; 0,250; 0,5; 1,0 miligramas por mililitro (mg/ml). Cada poço recebeu um inóculo de 10 μL de suspensão de microrganismos. Como controle positivo foi usado bacitracina 2,7 mg/ml e como controle negativo propilenoglicol. As placas-testes foram incubadas a 37°C por 24 horas. Decorrido o período de incubação cada poço recebeu um inóculo de 20 μL de tetrazólio e foram incubadas a 37°C por 24 horas. A leitura foi realizada visualmente comparando as amostras com os controles. Os experimentos foram realizados em duplicata, para cada cepa utilizada.

3.4. ENSAIO PARA AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DPPH

O radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazil) é estável, de coloração púrpura, e quando reduzido, passa a ter coloração amarela. Neste ensaio foi avaliada a capacidade das amostras-teste e amostra-padrão de reduzir o radical DPPH. Para tanto, 2,6 mg da amostra foi dissolvida em etanol (1mL), obtendo-se uma solução estoque. Várias diluições foram preparadas, de 6,25 a 200 ppm (partes por milhão), em etanol, e para cada amostra (10 μL) foi adicionado 50 μL de solução DPPH (10mg/mL). Decorridos 30 minutos a absorbância foi medida em espectrofotômetro, por comprimento de onda (λ) igual a 517 nm (nanômetro) e a porcentagem de atividade antiradical

calculada (HUANG e PRIOR, 2005; CUENDET *et al.* 1997). Como controle positivo foi utilizado o flavonóide quercetina (40 ppm) e como controle negativo o diluente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.5. ENSAIO PARA A AVALIAÇÃO ANTIOXIDANTE FOLIN

A amostra foi analisada quanto ao seu conteúdo de fenólicos totais solúveis, utilizando o método colorimétrico Folin-Ciocalteu (PICCINELI *et al.*, 2004; WU *et al.*, 2004). Para tanto, os extratos foram solubilizados em etanol, sendo preparadas diluições com concentrações entre 6,25 e 200 ppm. Para a substância de referência (ácido gálico) foi elaborada a curva analítica nas concentrações de 6,25; 12,5; 25; 50; 100 e 200 ppm. A absorbância da amostra e amostra-padrão foram medidas em espectrofotômetro ($\lambda = 730$ nm) e os resultados foram expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de extrato ou fração em base seca (mg de GAE/g). Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

3.6. ANÁLISE PRELIMINAR DO EXTRATO BRUTO ETANÓLICO POR ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM INJEÇÃO DIRETA E IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY (ESI-MS)

No Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, foram realizadas as análises preliminares por ESI-MS com os extratos brutos etanólicos de *Bauhinia variegata* var. *candida* e *Bauhinia variegata* var. *purpurea*. As amostras foram diluídas em uma solução contendo 50% (v/v) de metanol grau cromatográfico e 50% (v/v) de uma solução de água deionizada e 0,5% de hidróxido de amônio (Merck, Darmstadt, Alemanha). As análises ESI-MS foram realizadas por injeção direta no espectrômetro de massas quadrupolar - Micromass da Waters, por eletrospray em modo negativo e as condições gerais foram: temperatura de fonte 100°C, a tensão capilar de 3,0 kV e a tensão do cone de 30V obtendo o *Fingerprint* das amostras (SALVADOR *et al.*, 2011).

3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados apresentados neste estudo corresponderam à média das repetições, desvio padrão da média e coeficiente de variação. Os dados obtidos foram analisados por meio do software Origin 6.0 e Microsoft Office Excel 2010.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

4.1.1. Avaliação da efetividade frente a bactérias

O teste de eficiência antimicrobiana *in vitro* dos extratos brutos etanólicos (EBE) das flores brancas e roxas da espécie *Bauhinia variegata* foi realizado frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, utilizadas como indicadoras de atividade. Para as amostras que demonstraram atividade, foi estabelecida a concentração biocida mínima (CBM), aplicando a técnica de microdiluição em placa de 96 poços.

Nos resultados obtidos constatou-se (Tabela 1) que os extratos brutos possuem eficiência de inibição perante às bactérias testadas. Para o extrato de *Bauhinia variegata* var. *candida* foi observado o potencial de inibição para as cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)^a, *Staphylococcus aureus* 8-, *Staphylococcus aureus penicillinase +7* e *Bacillus subtilis* (Ct)^b com CBM de 1,0 mg/ml. O extrato bruto de *Bauhinia variegata* var. *purpurea* apresentou atividade para as cepas *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538)^a, *Staphylococcus aureus penicillinase +7* e *Bacillus subtilis* (Ct)^b com CBM de 0,5 mg/ml. As bactérias *Staphylococcus aureus* (ATCC 14458)^a, *Salmonella typhimurium* (Ct)^b, *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228)^a e *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341)^a não apresentaram sensibilidade frente aos extratos.

Tabela 1. Atividade antibacteriana do extrato bruto etanólico (EBE) das flores brancas e roxas de *Bauhinia variegata*, expressa em termos de concentração biocida mínima, (CBM mg/ml), determinada pela técnica de microdiluição. IFSULDEMINAS - Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG, 2017.

Microrganismos	EBE <i>B.variegata</i> branca CBM (mg/ml)	EBE <i>B.variegata</i> roxa CBM (mg/ml)
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 14458) ^a	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 6538) ^a	1,0	0,5
<i>Staphylococcus aureus</i> 8-	1,0	-
<i>Staphylococcus aureus penicillinase</i> +7	1,0	0,5
<i>Salmonella typhimurium</i> (Ct) ^b	-	-
<i>Bacillus subtilis</i> (Ct) ^b	1,0	0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (ATCC 12228) ^a	-	-
<i>Kocuria rizophila</i> (ATCC 9341) ^a	-	-

^a: cepa padrão American Type Culture Collection (ATCC); ^b: cepa de campo; -: ausência de inibição; CBM: Concentração Biocida Mínima (mg/mL) = concentração que inibe em 100% o desenvolvimento microbiano. Dados expressos como média de análise em duplicata. EBE: extrato bruto etanólico.

Segundo Grayson *et al.* (2012), a resistência antimicrobiana é uma ameaça a saúde pública causada tanto pela utilização adequada quanto inadequada de medicamentos anti-infecciosos utilizados no tratamento de humanos e diversas áreas do manejo com animais. É salientado que diversos pacientes no mundo todo sofrem com a resistência antimicrobiana e isto prejudica o atendimento tanto em países desenvolvidos quanto em países com recursos limitados, afetando de forma igualitária os processos terapêuticos de alta complexidade como o controle rotineiro para doenças infecciosas comuns.

Hee-Jin *et al.* (2001) observaram e estudaram a resistência de *Escherichia coli* em um hospital sul coreano e concluíram que o aumento dos casos de infecções teve uma relação com o uso de fluoroquinolonas que são antibióticos de amplo espectro relacionados ao ácido nalidíxico. Linhares *et al.* (2013) investigaram amostras de pacientes com infecções do trato urinário no distrito de Aveiro em Portugal por dez anos e o comportamento das bactérias mais comuns neste período. Foi observado o aumento da ocorrência de bactérias *Providencia spp* que se mostraram resistentes aos antibióticos mais utilizados no tratamento da UTI. Nakase *et al.* (2014) analisaram a relação entre a gravidade da acne vulgar e a resistência bacteriana em um hospital no Japão. Foram observadas mutações nas cepas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes* que levaram à resistência aos antibióticos mais utilizados no tratamento.

Desta forma, vários outros casos de bactérias resistentes a antibióticos tem sido registrados em todo o mundo dificultando o tratamento das doenças infecciosas.

Para auxiliar no combate a este problema as plantas podem contribuir na descoberta de novos antibióticos, pois possivelmente produtos naturais antimicrobianos podem ser biossintetizados e incorporados na prevenção e/ou combate ao ataque de microrganismos (GUIMARÃES; MOMESSO; PUPO, 2010).

Neste contexto Pokhrel *et al.* (2001) analisaram a atividade antimicrobiana de extrato bruto etanólico da casca de *B. variegata* e observaram a eficiência deste frente a *Staphylococcus aureus* (ATTCC29213) e *Bacillus subtilis* (ATTCC 6635) em CBM de 0,39 mg/ml. Sakthivel e Palani (2016) investigaram o potencial antimicrobiano do extrato bruto de sementes germinadas de *B. variegata* var. *purpurea* em uma concentração de 20µg utilizando método de difusão em disco, no qual foi possível observar uma atividade positiva para as cepas *Bacillus cereus* (MTCC 1262) e *Escherichia coli* (MTCC 443). Observando o estudo de Pokhrel *et al.* (2001) é possível notar uma semelhança com os resultados obtidos no presente trabalho, pois os extratos das flores de *B. variegata* também inibiram cepas de *S. aureus* e *B. subtilis* se diferenciando nas concentrações.

Ambos relatos proporcionam a real afirmação do potencial antimicrobiano da espécie e colaboram para a afirmação de que o presente trabalho enriquece os conhecimentos acerca das capacidades medicinais de *B. variegata*, possibilitando a descoberta de novas cepas inibidas e uma nova parte da planta a ser estudada, as flores.

É necessário ainda atentar para as concentrações das diluições dos extratos. Para assegurar resultados confiáveis, as concentrações dos extratos não devem ultrapassar 1mg/ml (RIOS; RECIO, 2005). Neste ponto, as dadas referências e o presente trabalho estão de acordo com tal recomendação.

4.2. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

4.2.1. Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante DPPH

O efeito antioxidante dos extratos brutos etanólicos (EBE) oriundos das flores brancas e roxas de *Bauhinia variegata* foram avaliados aplicando os ensaios indiretos de redução do radical

DPPH e quantificação de fenólicos totais FCR (Follin-Ciocalteu). As taxas de inibição do radical DPPH dos dois extratos de *Bauhinia variegata* estão representadas na Figura 3.

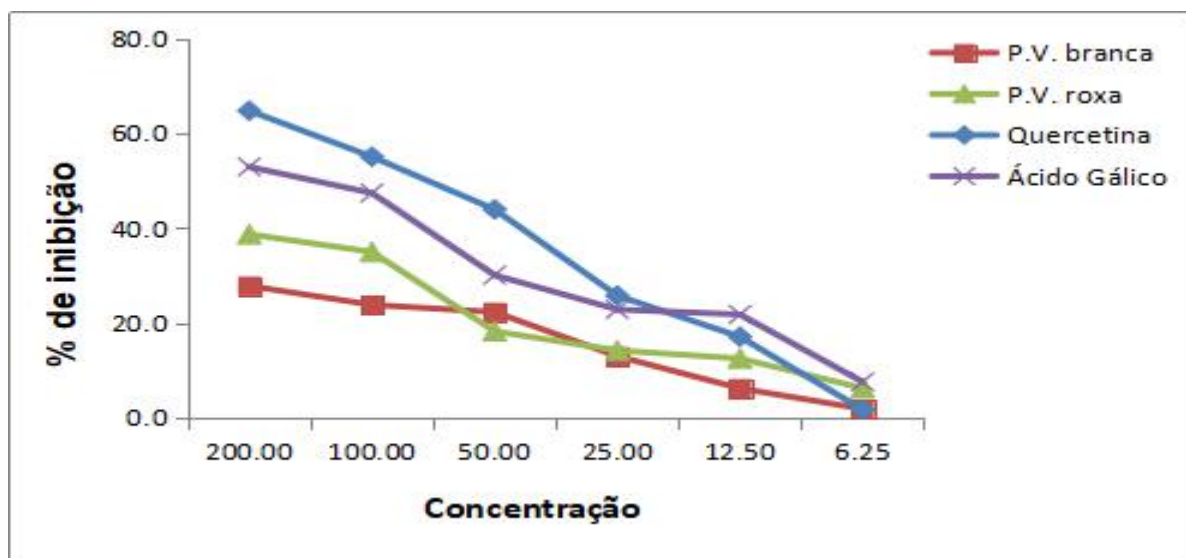


Figura 3. Porcentagem de inibição do radical DPPH dos extratos brutos etanólicos de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS-Campus Inconfidentes. Inconfidentes/MG 2017.

Nos resultados demonstrados na Figura 3 é possível observar que as melhores taxas de inibição para ambos extratos brutos foram nas concentrações 200µg/mL e 100µg/mL. Sendo que o extrato bruto de *B. variegata* var. *purpurea* apresentou em concentração de 200µg/mL uma porcentagem de inibição de 38,69% e em concentração de 100µg/mL houve uma inibição de 34,96% do radical. Para o extrato bruto de *B. variegata* var. *candida*, em concentração 200µg/mL houve uma taxa de inibição de 27,80% e na concentração 100µg/mL a porcentagem de inibição foi de 23,82%. Tais resultados comprovam a capacidade antioxidante de ambas amostras. Destaca-se ainda que os dois extratos obtiveram níveis de atividade similares em 25µg/mL, portanto quando aplicados nesta concentração ambos possuem níveis de eficiência próximos. Cabe ressaltar que quando comparados aos controles positivos, os extratos se mantiveram em níveis inferiores demonstrando menor eficiência.

Bhandari *et al.* (2017) observaram resultados similares no teste DPPH utilizando o extrato etanólico de galhos e folhas de *B. variegata* e ácido ascórbico como controle em concentrações de 1 µg/mL, 2 µg/mL, 3 µg/mL, 4 µg/mL, 5 µg/mL e 10 µg/mL. Assim como no presente estudo o controle se mostrou mais ativo que a amostra, sendo que os melhores resultados

para a amostra foram de 34,12% e 43,38% e para o controle foram de 44,25% e 89,25% nas concentrações 5 µg/mL e 10 µg/mL respectivamente.

Os resultados expressos em IC₅₀ expostos na Tabela 2 demonstram que ambos extratos não apresentam um potencial inibitório satisfatório quando comparados a quercetina e ao ácido cafeico. Para inibir 50% do radical DPPH ambos extratos necessitam estar em concentrações iguais ou maiores a 200 µg/mL, enquanto as substâncias controle quercetina e ácido gálico necessitam estar em 8,30 e 11,20 µg/mL respectivamente.

Tabela 2. Capacidade antioxidante, pelo ensaio DPPH, dos extratos brutos etanólicos das flores de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS-Campus Inconfidentes, 2017.

Amostras	^a Inibição do radical DPPH (IC ₅₀ em µg/mL) ^b
EBE <i>B. variegata</i> var. <i>candida</i>	>200
EBE <i>B. variegata</i> var. <i>purpurea</i>	>200
Quercetina*	8,30 (2,10)
Ácido gálico *	11,20 (2,40)

^aDados expressos como média (coeficiente de variação) do ensaio em triplicata; ^bEnsaio de inibição do radical DPPH. EBE: extrato bruto etanólico.

4.2.2 Ensaio para a avaliação da atividade antioxidante Follin-Ciocalteu

Através do método calorimétrico FCR (Follin-Ciocalteu) foi realizada a quantificação dos conteúdos fenólicos presentes nos extratos brutos de *Bauhinia variegata* como demonstra a Tabela 3.

Tabela 3. Conteúdo fenólico presente nos extratos brutos das flores de *Bauhinia variegata*. IFSULDEMINAS-Campus Inconfidentes, 2017.

Amostras	^a Conteúdo fenólico (mg de GAE/g de extrato)
EBE <i>B. variegata</i> var. <i>candida</i>	2,28 (0,1)
EBE <i>B. variegata</i> var. <i>purpurea</i>	2,29 (0,1)

^aDados expressos como média (coeficiente de variação) do ensaio em triplicata; ^bOs resultados de fenólicos totais estão expressos como miligramas de ácido gálico equivalente por grama de extrato; EBE: extrato bruto.

Percebe-se que no extrato bruto etanólico de *B. variegata* var. *candida* foram encontradas substâncias fenólicas em uma concentração de 2,28 mg de ácido gálico equivalente

por grama de extrato e no extrato bruto etanólico de *B. variegata* var. *purpurea* o valor foi de 2,29. Estes valores confirmam a eficiência antioxidante de ambos extratos frente ao teste DPPH, sendo este proporcional aos conteúdos totais fenólicos totais solúveis. Há, portanto, uma correlação direta entre os resultados de eficiência da ação antioxidante e os conteúdos fenólicos encontrados.

Duarte *et al.* (2007) detectaram compostos fenólicos em idioblastos caulinares e foliares de *B. variegata* por meio da reação com FeCl_3 e consideraram estes compostos como mecanismo de defesa da planta contra microrganismos e adversidades ambientais. Nascimento *et al.* (2011) encontraram significativos teores de compostos fenólicos totais em extratos de folhas de *B. variegata* coletadas em diferentes épocas do ano, os autores correlacionaram a presença de compostos fenólicos com a capacidade de inibição do radical DPPH convergendo, portanto, com o presente trabalho. É necessário ressaltar que foi observado um menor teor de fenólicos totais e consequentemente uma menor taxa de inibição do radical nos testes com as amostras coletadas nos meses em que houve extremos das condições de temperatura e umidade evidenciando a interferência da sazonalidade nas atividades químicas da planta. Sendo assim, os estudos referenciados embasam as conclusões das análises antioxidantes realizadas.

4.2. ESPECTROMETRIA DE MASSAS COM INJEÇÃO DIRETA E IONIZAÇÃO POR ELETROSPRAY (ESI-MS).

A verificação dos espectros adquiridos via ESI-MS ofereceu informações para a visualização de vários sinais ionizáveis. Os sinais ionizáveis foram apresentados como substâncias que possivelmente são encarregadas das atividades biológicas. Na Figura 4 é possível observar os íons protonados das moléculas encontradas no extrato bruto etanólico de *Bauhinia variegata* var. *candida* que apresentaram 1 u.m.a. a mais em seu peso molecular.

18 05 17

ale 225 1 (0.007)

1: Scan ES+
6.08e6

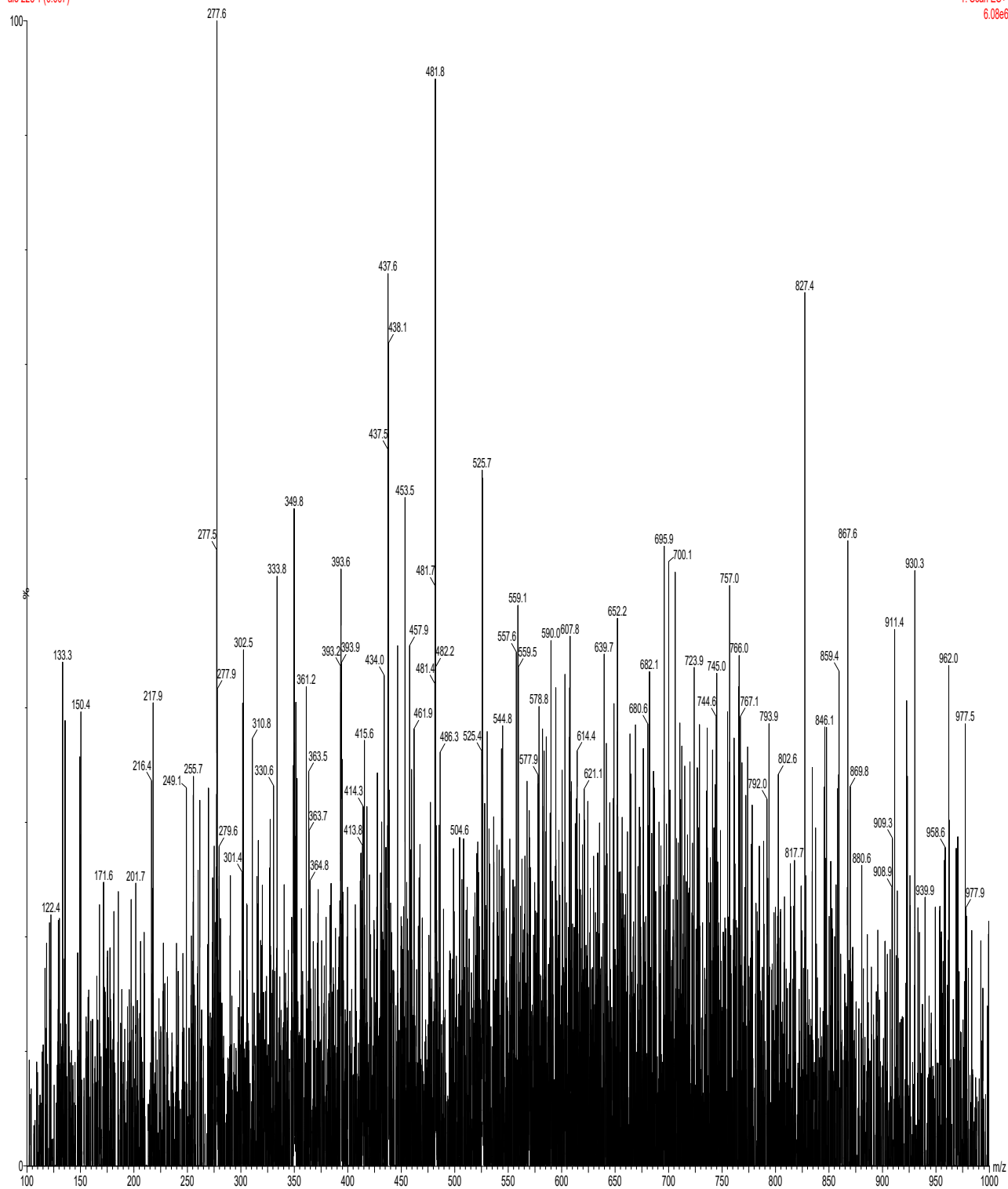


Figura 4. Fingerprint obtido via ESI-MS, em modo positivo, do extrato bruto etanólico das flores de *Bauhinia variegata* var. *candida*.

Na figura 5 estão demonstrados os íons desprotonados das moléculas encontradas no extrato bruto etanólico de *B. variegata* var. *candida* que apresentaram 1 u.m.a. a menos em seu peso molecular.

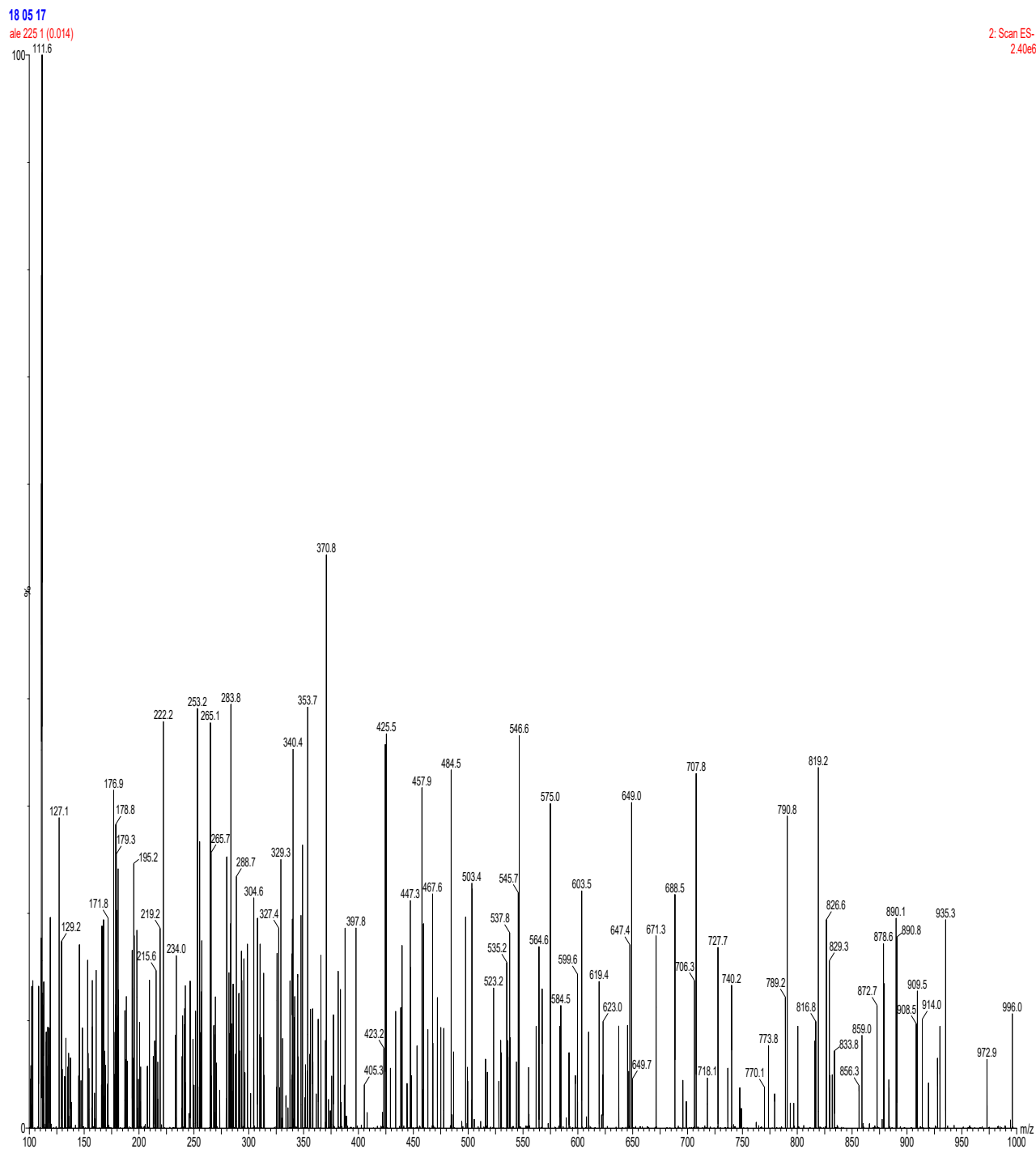


Figura 5. Fingerprint obtido via ESI-MS, em modo negativo, do extrato bruto etanólico das flores de *Bauhinia variegata* var. *candida*.

Quanto ao extrato bruto etanólico das flores de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*, este também foi analisado por meio da ESI-MS e apresentou (Figura 6) íons protonados das moléculas encontradas que manifestaram 1 u.m.a. a mais em seu peso molecular.

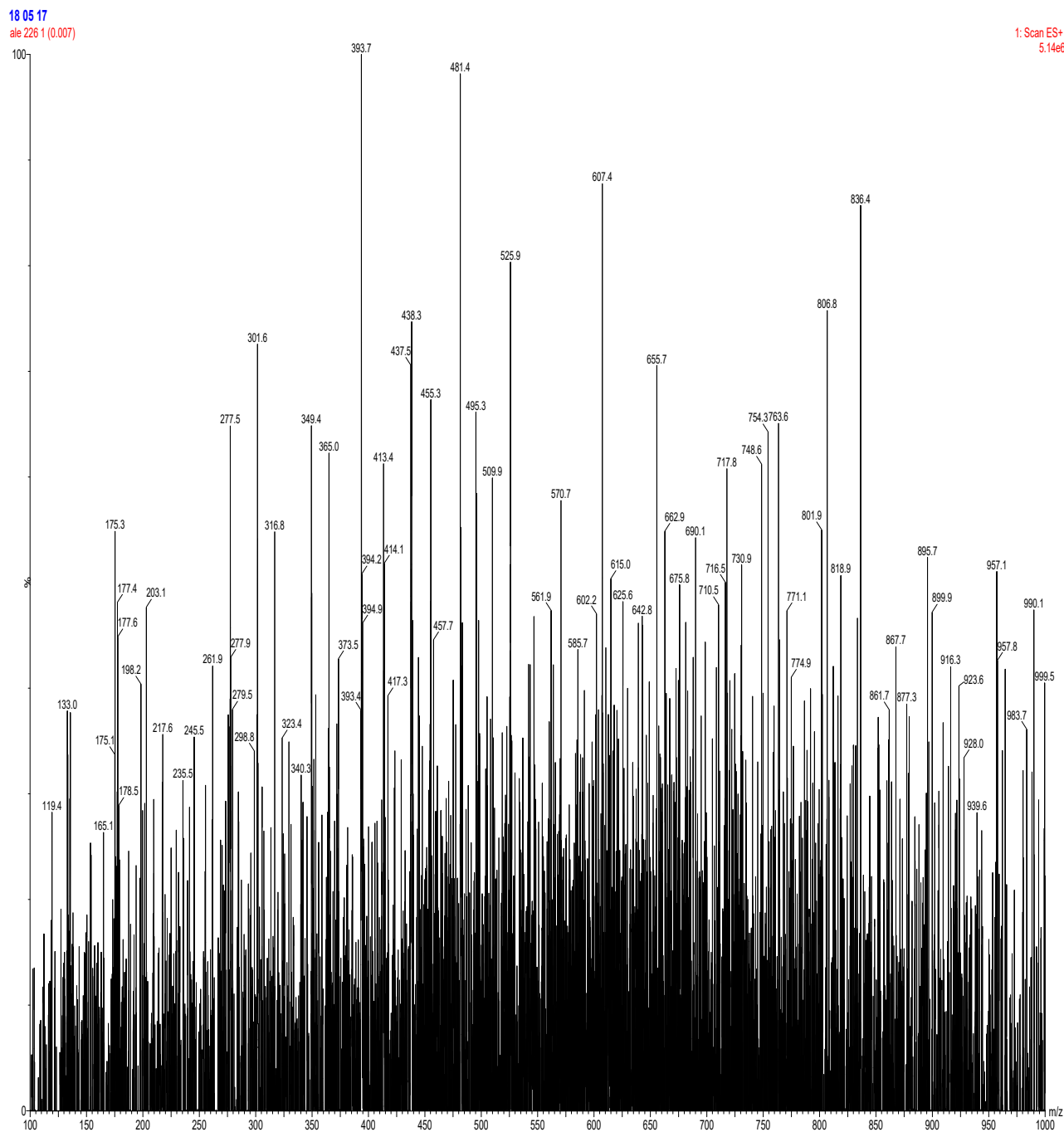


Figura 6. *Fingerprint* obtido via ESI-MS, em modo positivo, do extrato bruto etanólico das flores de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*.

Este mesmo extrato gerou íons desprotonados que foram captados por meio da presente análise e que apresentaram 1 u.m.a. a menos em seu peso molecular, como é possível observar na Figura 7.

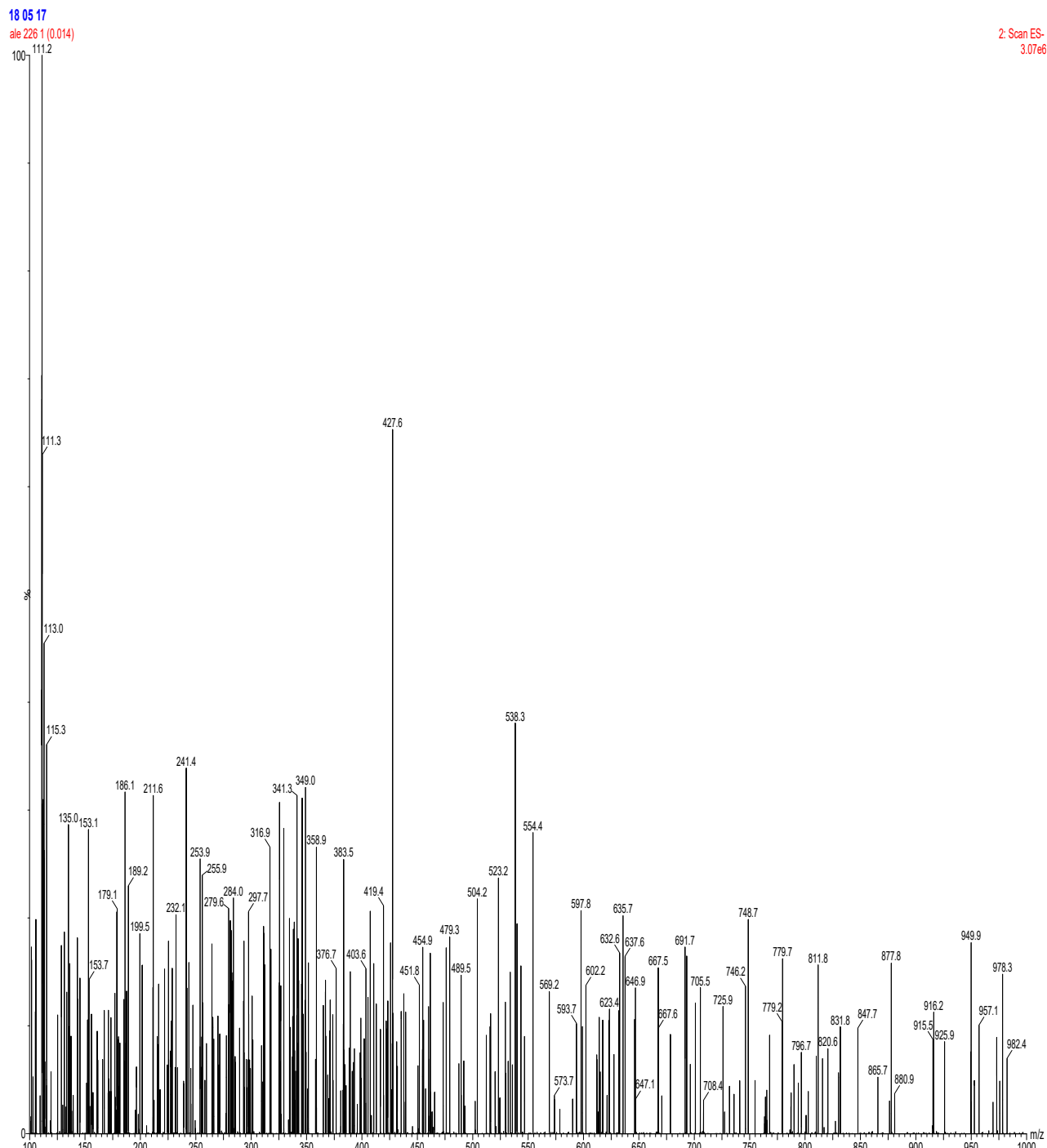


Figura 7. *Fingerprint* obtido via ESI-MS, em modo negativo, do extrato bruto etanólico de *Bauhinia variegata* var. *purpurea*.

Os resultados das análises apontam que é possível encontrar diversas substâncias ativas em ambos extratos estudados, evidenciando portanto a presença de compostos bioativos que podem estar relacionados com as capacidades antimicrobiana e antioxidante apresentadas anteriormente. Sugere-se a realização de futuras pesquisas para um conhecimento mais profundo das substâncias identificadas devida a alta complexidade do estudos destas.

Como exemplo da importância de futuras investigações das substâncias presentes nas espectrometrias de massas é possível citar Fang *et al.* (2010) que relataram em seus estudos a presença de uma substância encontrada em espectrometria de massas do extrato bruto de sementes de *B. variegata* que posteriormente foi purificada por meio de cromatografia para as análises de suas capacidades medicinais. Concluiu-se então que se trata de um novo inibidor de tripsina capaz de reduzir significativamente a proliferação do câncer nasofaríngeo.

Este relato colabora para a elucidação da importância e necessidade de estudos mais profundos com a espécie *B. variegata* e seus compostos, visto a relevante capacidade medicinal dos mesmos.

5. CONCLUSÃO

Os estudos das flores brancas e roxas da espécie *Bauhinia variegata* possibilitaram concluir que a espécie mostrou-se ativa com potencial antimicrobiano frente à quatro da oito linhagens utilizadas na análise, corroborando para a descoberta de novas cepas inibidas.

Em uma visão geral do teste antioxidante DPPH, houve eficiência no combate ao radical livre correlacionada aos teores de conteúdos fenólicos totais.

As análises de espectrometria de massas mostraram a presença de substâncias que possivelmente são responsáveis pela bioatividade da planta, colaborando para futuras pesquisas acerca destas substâncias.

Portanto, os resultados apontam para o fato de que o extrato bruto etanólico das flores de *Bauhinia variegata* possuem propriedades medicinais importantes podendo contribuir para síntese de novos fitoterápicos.

6. REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância sanitária. **Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira: Generalidades**. 1 ed. Brasília: Anvisa, 2011. 125 p.

BHANDARI, J. et al. **Study of Phytochemical, Anti-Microbial, Anti-Oxidant, Phytotoxic, and Immunomodulatory Activity Properties of Bauhinia variegata**. The Journal Of Tropical Life Science. Kathmandu, p. 83-90. jan. 2017.

BEVILACQUA, H.E.C.R. **Histórico das plantas medicinais e legislação: histórico das plantas medicinais**. In: HARAGUCHI, L.M.M.; CARVALHO, O.B. Plantas Medicinais: do curso de plantas medicinais. São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, 2010. Cap.2, p. 34-35.

BORTOLUZZI, R. L. da C.; MIOTTO, S. T. S.; REIS, A. **Flora Ilustrada Catarinense: Leguminosas Cesalpinoídeas**. 2006. Disponível em: <<http://botanica.sp.gov.br/importacao-automatica/flora-ilustrada-catarinense/>>. Acesso em: 05 mar. 2017

CUENDET, M.; HOSTETTMANN, K.; POTTERAT, O.; DYATMIKO, W. **Iridoid glucosides with free radicals scavenging properties from Fagraea blumei**, Helectica Chimica Acta, v.80, p.1144-1152, 1997.

DOMINGOS, A. H.; CAPELLARI J. L. **Plantas medicinais: patas-de-vaca**. Piracicaba: Serviço de Produções Gráficas-Esalq, 2016. 29p. (Produtor Rural). Disponível em: www4.esalq.usp.br/biblioteca. Acesso em: 12 nov. 2016.

DUARTE-ALMEIDA, J. M.; NEGRI, G.; SALATINO, A. **Volatile oils in leaves of Bauhinia (Fabaceae Caesalpinoideae)**. Biochemical Systematics And Ecology. São Paulo, p. 747-753. 09 jan. 2004.

DUARTE, M. R. *et al.* ***Bauhinia variegata*: Diagnose Morfoanatômica e Análise Comparativa entre Exemplos de Regiões Climáticas Distintas.** Latin American Journal Of Pharmacy: Formerly Acta Farmacéutica Bonaerense. Curitiba, p. 837-845. 09 set. 2007.

EDIRISINGHI, J. S.. **Traditionals Anti-Malarials - Siri Lankan Experience.** Parasital Today. Poradenya, p. 327-328. fev. 1986.

FANG, E. *et al.* ***Bauhinia variegata* var. *variegata* trypsi inhibitor: From isolation to potential medicinal applications.** Biochemical And Biophysical Researchs Communications. Hong Kong, p. 806-811. 08 maio 2010.

FORTUNATO, R.H. **Revisión del género *Bauhinia* (Cercideae, Caesalpinioidea, Fabaceae) para la Argentina.** Darwiniana, SanIsidoro, v.27, n.1/4, p.527-557, 1986.

FRANÇA, I. S. X.; ALVEZ DE S., J.; SANTOS B., R.; SOUSA B., V. R.;(2008). **Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais.** Revista Brasileira de Enfermagem, Marzo-Abril,201-208.

GAIAD, S.; CARVALHO, P. E. R. **Árvore do Conhecimento Espécies Arbóreas Brasileiras: Faboideae (Papilionoideae).**2015. Disponível em:
<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/especies_arboreas_brasileiras/arvore > Acesso em: 26 mar 2017.

GRAYSON, M. L.; HEYMANN, D.; PITTET, D. A crescente ameaça da resistência antimicrobiana. *In*: KIENY, Marie-paule. **A crescente ameaça da resistência antimicrobiana: Opções de ação.** Genebra: Departamento de Publicações da Oms, Organização Mundial da Saúde, 2012. Cap. 01, p. 06.

GUIMARÃES, D. O.; MOMESSO, L. da S. PUPO, M. T.. **Antibióticos: Importância Terapêutica e Perspectivas para a Descoberta e Desenvolvimento de Novos Agentes.** Química Nova, Ribeirão Preto, v. 33, n. 03, p.667-679, 24 fev. 2010.

HARAGUCHI, L. M. M.. Prefácio. *In*: HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B.. **Plantas Mediciniais: do curso de plantas medicinais.** São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente., 2010. p. 10.

HEE-JIN, C. *et al.* **Bacteremia Due to Quinolone-Resistant *Escherichia coli* in a Teaching Hospital in South Korea.** Clinical Infectious Diseases, Seoul, v. 33, p.48-53, 23 jun. 2001.

HONDA, S.. Importância da Identificação correta das Plantas e Nomenclatura Botânica. *In*: HARAGUCHI, L.M. M.; CARVALHO, O. B. **Plantas Mediciniais: do curso de plantas medicinais.** São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, 2010. Cap. 3, p. 42.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R. L. **The chemistry behind antioxidant capacity assays.** J. Agric. Food Chem, v.53, p.1841-1856, 2005.

JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F., DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético.** 3.ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

LEWIS, G.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B. & LOCKM. (eds.) 2005. **Legumes of the World.** Kew, Royal Botanic Gardens, 577p.

LIMA, H.C. 2000. **Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica: uma análise da riqueza, padrões de distribuição geográfica e similaridades florísticas em remanescentes florestais do Estado do Rio de Janeiro.** Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

LINHARES, I. *et al.* **Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000–2009).** Biomedic Central Infectious Diseases, Aveiro, v. 13, n. 19, p.01-14, maio 2013.

LORENZI, H.; SOUZA, H. D.; TORRES, M.A.V.; BACHER, L.B. **Árvores exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas.** Nova Odessa: Instituto Plantar Um de Estudos da Flora, 2003. 368p.

MENEZES, F. S. *et al.* **Hypoglycemic activity of two Brazilian *Bauhinia* species: *Bauhinia forficata* L. and *Bauhinia monandra* Kurz.** Revista Brasileira de Farmacognosia, Rio de Janeiro, v. 17, n. 01, p.08-13, 23 fev. 2007.

MICROSOFT CORPORATION. Microsoft Office Excel, 2010, Windows 8. CD-ROM.

NAKASE, K. *et al.* **Relationship between the severity of acne vulgaris and antimicrobial resistance of bacteria isolated from acne lesions in a hospital in Japan.** Journal Of Medical Microbiology, Tokyo, v. 63, p.721-728, 11 fev. 2014.

NASCIMENTO, J. C. *et al.* **Antioxidant determination activity by DPPH method and assay for total flavonoids in leaves extracts of *Bauhinia variegata* L.** Brazilian Journal Of Pharmacy, Belo Horizonte, v. 92, n. 4, p.327-332, 12 nov. 2011.

PICCINELLI, A. L.; DESIMONE, F.; PASSI, S.; RASTRELLI, L. **Phenolic constituents and antioxidant activity of *Wendita calysina* leaves (burrito), a folk Paraguayan tea.** J. Agric. Food Chem, v.52, p.5863-5868, 2004.

PNPMF. Constituição (2009). Programas e Relatórios nº 2960, de 09 de dezembro de 2008. **Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos.** 01. ed. Brasília: Ms, 2009. Seção 02, p. 01-97.

POKHREL,N.R.; ADHIKARI, R.P.; BARAL, M.P. **In-vitro evaluation of the antimicrobial activity of *Bauhinia variegata*, locally known as koiralo.** World Journal Of Microbiology & Biotechnology. Kirtipur, p.69-71.out. 2001.

RDC. Constituição (2010). Resolução nº 14, de 29 de março de 2010. **Resolução de Diretoria Colegiada.**

RÍOS, J.L.; RECIO,M.C.. **Medicinal plants and antimicrobia lactivity.** Journal Of Ethnopharmacology. Valencia,p.80-84.17 jun. 2005.

SALATINO, A., C.T. T. BLATT,D.Y.A.C.SANTOS & A.M.S.F.VAZ (1999) Rev. Bras. Bot. 22

SAKTHIVEL M., PALANI P., **Isolation, purification and characterization of antimicrobial protein from seedlings of *Bauhinia purpurea* L.,** International Journal of Biological Macromolecules (2016).

SALVADOR, M.J. **Estudo químico,biológico e biotecnológico de *Alternanthera maritima* e *Alternanthera tenela* (Gomphreneae, Amaranthaceae).** 2005. 410p. Tese (Doutorado em Ciências- Área Química), Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto,Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

SALVADOR, M. J.; de LOURENÇO, C. C.; ANDREAZZA N. L.; PASCOAL, A. C.; STEFANELLO, M. E. **Antioxidant capacity and phenolic content of four Myrtaceae plants of the south of Brazil.** Natural Product Communications, v. 6, n. 7, p. 977-982, 2011.

SILVA, K. L.; CECHINEL F., V.. **Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição Química e Potencial Farmacológico.** Química Nova, Itajaí, v. 25, n. 3, p.449-454, 04 set. 2001.

SIMON D. **O guia Decepar Chora de ervas: 40 receitas naturais para uma saúde perfeita.** Rio de Janeiro (RJ): Campus; 2001.

SOUZA,V.C.; LORENZI, H. 2012. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil,baseado em APGIII.3ªed.**Instituto Plantarum, Nova Odessa, SãoPaulo, 2012.

TOZZI, A.M. G. A.. **Parte integrante da Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo: Subfamília Caesalponidae.** Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo, São Paulo, v. 08, p.22-83, out. 2016.

TUPIASSÚ, A.; CARDOSO, M. J. A.. Extrativismo, coleta e manejo de recursos vegetais de florestas. *In*: HARAGUCHI, L. M. M.; CARVALHO, O. B. **Plantas Medicinais: do curso de plantas medicinais.**São Paulo: Secretaria Municipal do Verde e do Meio Ambiente, 2010. Cap. 01. p. 20-23.

VALE NB. **A farmacobotânica, ainda tem lugar na moderna anestesiologia?** Rev Bras Anesthesiol2002;52(3):368-80.

VAZ, A.M.S.F. & TOZZI, A.M.G.A. 2016. *Bauhinia*. In R.C.Forzza et al.(eds.) **Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB22811>. Acesso em: 27 de Março de 2017.

VEIGA, V.F.; PINTO, A. C.. **Plantas Mediciniais: Cura Segura?** Química Nova, Rio de Janeiro, v. 28, n. 03, p.519-528, 28 fev. 2005

WU, X.; BEECHER, G.R; HOLDEN, J.M.; HAYTOWITZ, D.B.; GEBHARDT, S.E.; PRIOR, R.L. **Lipophilic and hydrophilic capacities of common foods in the United States**. J.Agric.Food Chem,v.52,p.4026-4037,2004.

Yadava R. N. & Reddy V. M. S. (2001) **A New Flavone Glycoside, 5-Hydroxy 7,3',4',5'-Tetra-Methoxyflavone5-O- β -D-Xylopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-Rhamnopyranoside from *Bauhinia Variegata* Linn**, Journal of Asian Natural Products Research, 3:4, 341-346.

Yadava R.N. & V. Reddy M. S. (2003) **Anti-Inflammatory Activity of a Novel Flavonol Glycoside from the *Bauhinia Variegata* Linn**, Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters, 17:3, 165-169.

ZAMPRONI, K.; MARTINI, A.; BIONDI, D. **Fenologia de *Bauhinia variegata* L. In: V Congresso Brasileiro de Gestão Ambiental, 05., 2014, Belo Horizonte. Artigo. Belo Horizonte: Ibeas, 2014. p. 01 - 03.**