

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE  
*Hymenolobium sericeum* Ducke

Bolsista: Yasmin Cunha da Silva, FAPEAM

MANAUS

2013

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS  
PRO REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA  
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

RELATÓRIO FINAL

PIB - E - 0004/2012

ESTUDO FITOQUÍMICO E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE  
*Hymenolobium sericeum* Ducke

Bolsista: Yasmin Cunha da Silva, FAPEAM.

Orientador: Prof Dr Valdir Florêncio da Veiga Júnior

MANAUS

2013

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao grupo de pesquisa Q-BiomA e a seus autores. Parte desse relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos

Esta pesquisa, financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, foi desenvolvida pelo grupo de pesquisa Q-BiomA e se caracteriza como sub projeto do projeto de pesquisa Estudos Fitoquímicos de Fabaceae, Lauraceae e Burseraceae

## RESUMO

A família Fabaceae destaca-se por ser a terceira maior família da botânica, sendo subdividida em quatro subfamílias: Faboideae, Caesalpinioideae, Mimosoideae e Cercideae. O gênero *Hymenolobium* apresenta cerca de 17 espécies distribuídas pela região tropical, esse gênero faz parte da subfamília Faboideae, que é a mais evoluída da família, apresentando aproximadamente 482 gêneros e cerca de 1200 espécies. Apesar desse gênero pertencer a uma das maiores famílias da botânica, não existem estudos de investigação fitoquímica e nem de atividades biológicas na literatura. Porém, há estudos para outros gêneros da subfamília Faboideae que relatam a presença de substâncias com propriedades farmacológicas, como atividades antioxidantes. Dessa forma, esse trabalho visa o estudo fitoquímico e a avaliação das atividades antioxidante e antimicrobiana dos extratos das flores e cascas da espécie *Hymenolobium sericeum* Ducke. Para atingir tais objetivos, foi realizada inicialmente a análise cromatográfica de todos os extratos, por cromatografia em camada delgada (CCD), seguida de uma análise qualitativa de fenólicos, flavonoides e da atividade antioxidante usando o radical estável 2,2-defenil-1-picrilhidrazil (DPPH•). A partir desses resultados selecionou-se os extratos para os ensaios quantitativos. Nessas análises obteve-se bons resultados para o extrato etanólico das cascas, que apresentou o maior teor de fenólicos (30%) e a melhor atividade antioxidante. O extrato obtido em acetato de etila das flores teve a maior porcentagem de flavonoides totais, com aproximadamente 15%. Nos ensaios de atividade antimicrobiana, não foram observados extratos ativos. Os extratos de média polaridade foram fracionados por cromatografia em coluna de sílica, para obtenção de substâncias puras. As frações, que formaram cristais, foram recristalizadas para a purificação e essas frações que em CCD apresentaram resultados positivos para flavonoides, foram analisadas por espectrometria de massas (EM). A partir dos resultados dos espectros e em comparação com a literatura, foi possível identificar a substância isolada do extrato em acetato de etila das flores é um flavonoide, que apresentou massa correspondente da genisteína e que foi confirmada por RMN de <sup>1</sup>H. Para a fração em clorofórmio do extrato das cascas, essa análise espectrométrica resultou em massa correspondente a 6-metoxiapigenina, já para a fração em acetato de etila do extrato das cascas, foi obtido um pico com massa correspondente a (epi)catequina. Estudos confirmatórios utilizando ressonância magnética nuclear serão realizados para a confirmação destas moléculas.

**Palavras-chave:** flavonoides; atividade antioxidante; atividade antimicrobiana.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>06</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>07</b>
<b>3. METODOLOGIA.....</b>	<b>09</b>
3.1 Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH.....	09
3.2 Teste quantitativo e qualitativo de Fenóis Totais.....	09
3.3 Teste quantitativo e qualitativo de Flavonoides Totais.....	09
3.4 Atividade antimicrobiana.....	09
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>10</b>
4.1 Estudo fitoquímico das flores de <i>Hymenolobium sericeum</i> Ducke.....	11
4.2 Estudo fitoquímico das cascas de <i>Hymenolobium sericeum</i> Ducke.....	12
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>16</b>
<b>7. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES.....</b>	<b>21</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma imensa riqueza vegetal, que é considerada fonte de substâncias biologicamente ativas. Toda essa biodiversidade vem sendo alvo de estudos na área de produtos naturais, com a finalidade de fornecer alternativas terapêuticas mais eficientes e seguras, assim proporcionando a descoberta de novos fármacos (Barreiro, 2009; Braz-Filho, 2010).

A família Fabaceae destaca-se por ser a terceira maior família da botânica, apresentando uma grande distribuição nas regiões temperadas e tropicais, sendo subdividida em quatro subfamílias: Faboideae, Caesalpinioideae, Mimosoideae e Cercidea. A subfamília Faboideae é a mais evoluída da família, apresentando aproximadamente 482 gêneros e cerca de 12000 espécies (Barroso, 1978; Joly, 1993; Polhill *et al.*, 1981; Di Stasi *et al.*, 2002).

O gênero *Hymenolobium* pertence à subfamília Faboideae, apesar desse gênero estar incluído nessa subfamília, que é a maior, na literatura só existem estudos relacionados à taxonomia vegetal, não apresentando nenhum relato da composição química, nem de atividade biológicas de espécies desse gênero.

Dados da literatura relatam o isolamento de alguns compostos fenólicos na subfamília Faboideae, que apresentam atividades antioxidantes (sequestrando radicais livres) e agindo no combate a microorganismos (Cabral *et al.*, 2009; Peres *et al.*, 2009). Esses relatos demonstram a importância de estudos das atividades antioxidante e antimicrobiana com extratos, devido ao surgimento de novas doenças e ao aumento da resistência de microorganismos aos antibióticos usados clinicamente (Mallavarapu, 2001).

Na etnofarmacologia dos povos da Amazônia, as cascas de *Hymenolobium flavum* Kleinh são utilizadas para tratar feridas na Guiana, e o extrato aquoso de *Hymenolobium nitidum* Benth é utilizado na imobilização de peixes para pesca (Defilipps *et al.*, 2004).

Nesse contexto, considerando que a espécie *Hymenolobium sericeum* Ducke, que é uma das espécies símbolo da Universidade Federal do Amazonas, localizada à entrada do campus, com copa bem acima do dossel, não possui relatos de investigações fitoquímicas ou de atividades biológicas, propõe-se então um estudo fitoquímico com avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante de extratos dessa espécie, bem como quantificação de fenólicos presentes nesses extratos.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

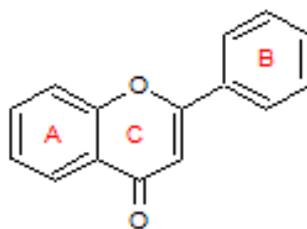
Na Amazônia brasileira, as espécies da família Fabaceae estão amplamente distribuídas, o que pode ser evidenciado pelos vários inventários florísticos, nos quais a família está representada pelo maior número de espécies. Esta família é muito utilizada na alimentação humana e animal, sendo os legumes um dos alimentos mais ricos em proteínas. Alguns frutos e sementes são utilizados para fabricação de corantes, óleos, perfumes, inseticidas, apresentando também uso medicinal e ornamental (Oliveira *et al.*, 2010).

O gênero *Hymenolobium* foi estabelecido por Benth (1876), a partir de *H. nitidum* Benth, da Amazônia. Esse gênero pertence à subfamília Faboideae, que é a mais evoluída da família da Fabaceae, apresentando 17 espécies que estão distribuídas pela região tropical. Suas espécies são conhecidas pelo nome vernacular de “angelim”. As espécies do gênero *Hymenolobium* são muito utilizadas nas indústrias madeireiras (Mattos, 1979; Oliveira *et al.*, 2010).

Diversos constituintes químicos podem ser encontrados nas plantas da subfamília Faboideae como: ácidos fenólicos, alcaloides, flavonoides, neoflavonóides, isoflavonóides, rotenóides, terpenóides (Craveiro *et al.*, 2008; Ignoato *et al.*, 2012, Moura *et al.*, 2011; Virtuoso *et al.*, 2005). É importante destacar os isoflavonóides que, ao contrário dos flavonóides, tem ocorrência restrita, sendo quase exclusivos da família Fabaceae (Dewick, 2002).

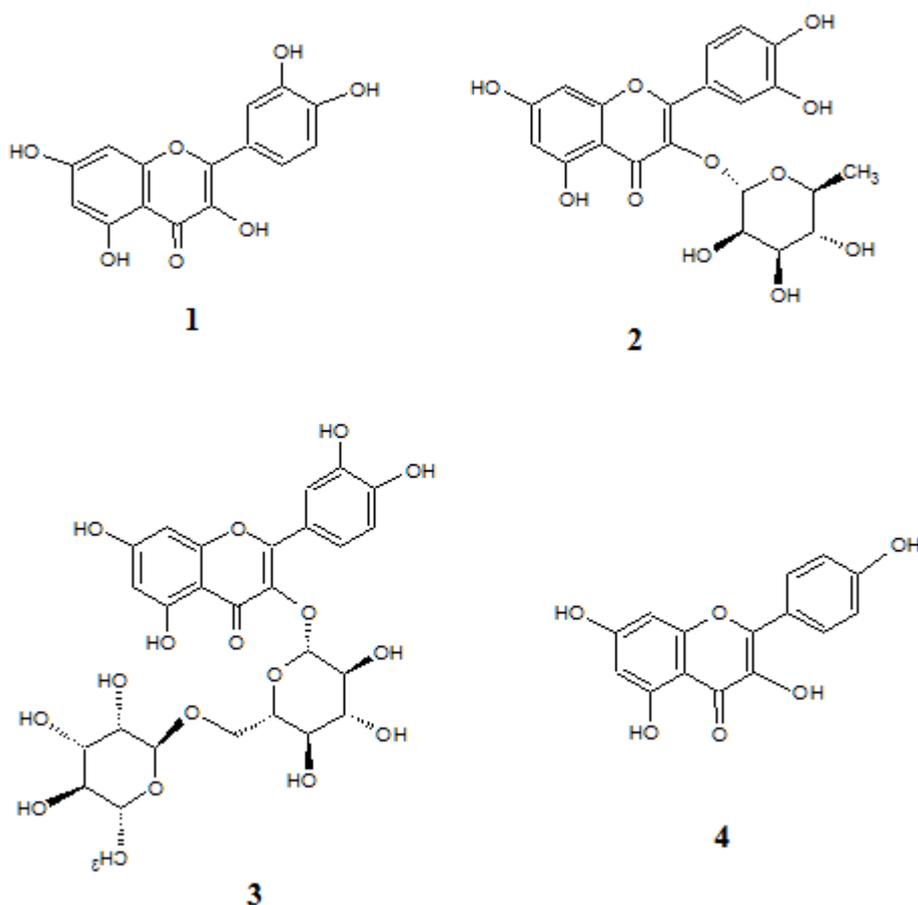
Entre esses constituintes químicos descritos na subfamília Faboideae, têm-se os compostos fenólicos, como por exemplo, flavonoides, que destacam-se por apresentarem diversas propriedades farmacológicas, agindo como, antitumorais, antimicrobianas, anti-inflamatórios, antioxidantes, antivirais, fungicidas, antiprotozoários, bem como a redução de riscos de doenças cardiovasculares (Santos *et al.*, 2009; Oliveira *et al.*, 2009).

Os flavonoides são considerados um dos maiores grupos de metabólitos secundários, apresentando uma estrutura compostos por 15 átomos de carbono, reunidos em um núcleo tricíclico, ou seja, consistem de um esqueleto de difenil propano, com dois anéis benzênicos (A e B) ligados a um anel pirânico (C), como mostra a figura 1. Podem ser classificados em antocianidinas, flavanóis, flavonona, flavonas, flavonóis e isoflavonas (Ahlenstiel, 2003; Rice-Evans *et al.*, 1996)



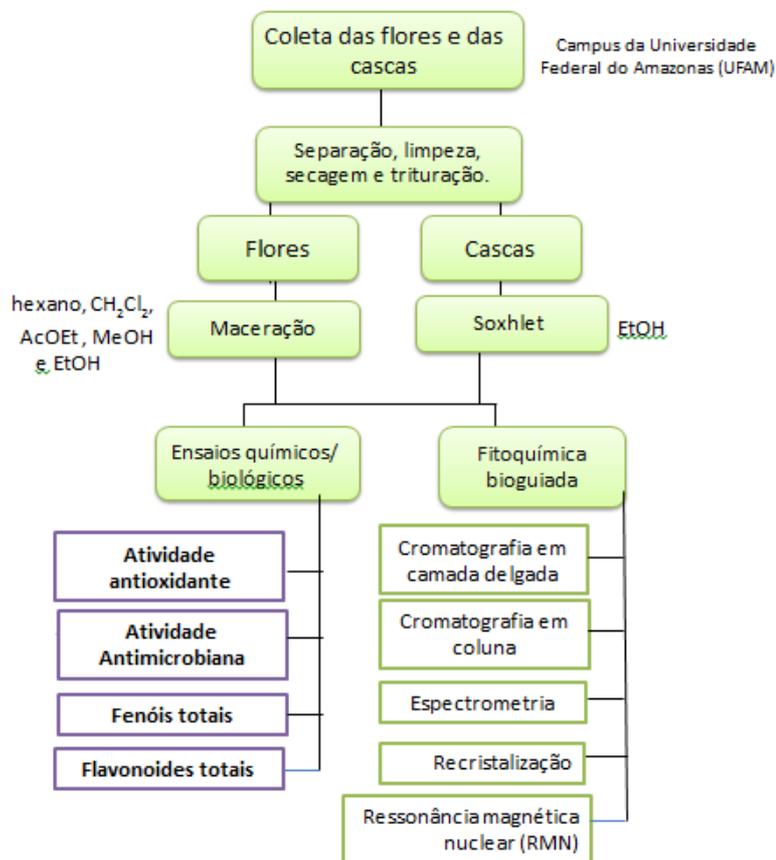
**Figura 1** – Estrutura básica dos flavonoides

Na subfamília Faboideae já foram relatados diversos flavonoides (figura 2), como:  $\alpha$ -raminoisobina, quercetrina, kaempferitrina (Engel *et al.*, 2008), derivados de kaempferol, rutina (Moura *et al.*, 2011; Ignoato *et al.*, 2012), derivados de quercetina, daidzeina (Miranda *et al.*, 2012; Alves *et al.*, 2012), entre outras substâncias.



**Figura 2** – Flavonoides isolados em espécies da subfamília Faboideae: 1) Quercetina; 2) Quercitrina; 3) Rutina e 4) Kaempferol

### 3. MÉTODOS UTILIZADOS



**Figura 3** – Esquema geral da metodologia do projeto

#### 3.1 Análise da atividade antioxidante frente ao radical livre DPPH

A análise qualitativa foi realizada segundo a metodologia de Montenegro *et al.*(2006) e Soler-Rivas *et al.* (2000) e a análise quantitativo foi realizada segundo a metodologia de Mensor (2001), com modificações.

#### 3.2 Teste quantitativo e qualitativo de Fenóis Totais

O teste qualitativo foi realizada em placa cromatográfica utilizando o FeCl<sub>3</sub> como revelador e o teste quantitativo de fenóis totais foi feito de acordo com a metodologia de Singleton *et al.* (1999), com modificações.

#### 3.3 Teste quantitativo e qualitativo de Flavonoides Totais

A análise qualitativa foi realizada em placa cromatográfica utilizando o NP-PEG como revelador e análise quantitativa foi feita pelo método calorimétrico com cloreto de alumínio, utilizando a metodologia de Chang *et al.* (2002) adaptado para microplacas.

#### 3.4 Atividade antimicrobiana

No ensaio antimicrobiano utilizou-se a técnica de difusão em poço e a técnica de difusão em disco. A análise realizada na FIOCRUZ-AM.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os extratos das flores foram preparados por maceração a frio em hexano, diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), também sendo preparado em uma quantidade menor um extrato em etanol (EtOH). O extrato etanólico das cascas foi obtido a partir da extração por sohxlet. As formas de preparo dos extratos foram diferentes, pelo fato da extração das substâncias das flores ser mais fácil, devido à fragilidade de sua estrutura, diferentemente das cascas.

Após a preparação dos extratos foram feitas análises qualitativas de fenóis, flavonoides e da atividade antioxidante, obtendo resultados positivo nas três análises, para os extratos em AcOEt, EtOH e MeOH das flores e para o extrato em EtOH das cascas. Posteriormente, fez-se a quantificação com os extratos, que foram obtidos resultados positivos nos ensaios preliminares.

Na quantificação espectrométrica de compostos fenólicos, flavonoídicos e da atividade antioxidante obteve-se os resultados que estão expressos na tabela 1. O extrato que apresentou o maior teor de fenóis foi do extrato em EtOH das cascas, com uma porcentagem maior que 30%, nesse ensaio foi usado como padrão o ácido gálico. O extrato que apresentou maior teor de flavonoides foi o de AcOEt, sendo usado com padrão a quercetina.

**Tabela 1** – Resultado da análise quantitativa de fenóis totais, da atividade antioxidante e de flavonoides totais.

Amostra		Fenóis (% ± dp)	DPPH (µg/mL±dp)	Flavonoides (% ± dp)
Extratos das Flores	AcOEt	11,55 ± 1,16	100,79 ± 3,85	14,69 ± 0,44
	EtOH	16,88 ± 1,90	30,92 ± 0,72	4,97 ± 0,03
	MeOH	6,41 ± 0,80	131,75 ± 8,21	4,27 ± 0,03
Extrato das Cascas	EtOH	30,26 ± 1,47	15,77 ± 0,45	2,51 ± 0,07
Padrão		100	7,73 ± 0,04	100

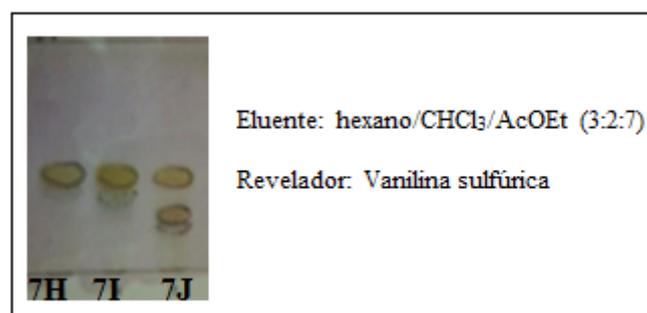
O ensaio de atividade antioxidante quantitativo ocorreu pelo decréscimo da absorbância, assim usado o DPPH• como reagente e branco e a quercetina como padrão. Os resultados observados na tabela 1 permitem dizer, que os extratos etanólico foram os que apresentaram melhores resultado.

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos, pode estar relacionada à presença de substâncias fenólicas, uma vez que estes apresentaram os maiores percentuais de fenóis. Tais substâncias apresentam importância na neutralização de radicais livres, que pode ser evidenciada neste ensaio de atividade antioxidante. Essa atividade deve estar relacionada à presença de outros compostos fenólicos, não sendo exclusivamente de flavonoides, pois os extratos etanólico apresentaram baixa porcentagem de flavonoides.

Na literatura existem relatos de espécies da família Fabaceae que apresentam potencial como agentes antimicrobianos, atividade que esta relacionada à presença de várias classes de flavonoides (Virtuoso *et al.*, 2005). Apesar de ter obtido nos extratos de média e alta polaridade resultados positivos para flavonoides, obteve-se resultado negativo na atividade antimicrobiana para todos os extratos, tanto das cascas quanto das flores.

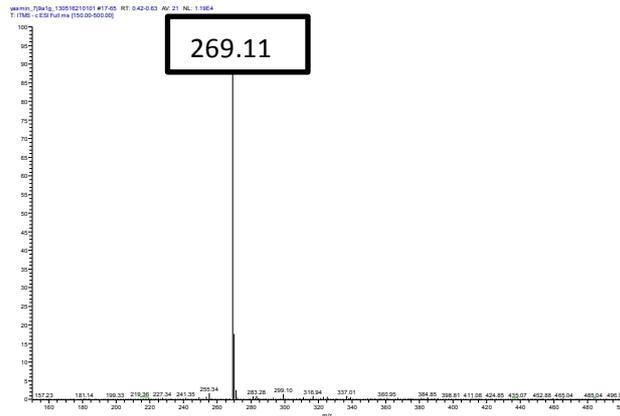
#### 4.1 Estudo fitoquímico das flores de *Hymenolobium sericeum* Ducke

No extrato de AcOEt das flores foi realizada uma coluna cromatográfica, devido ao alto teor de flavonoides. Nessa coluna obteve-se 15 frações, na qual cinco frações foram reunidas para fazer outra coluna cromatográfica. A partir desse segundo fracionamento, obteve-se 13 frações, três delas formaram cristais (7H, 7I, 7J), com rendimentos de 16,26%, 24,79% e 23,24%, respectivamente. Na figura 4 pode-se observar o perfil cromatográfico dos três cristais, sendo importante ressaltar, que em CCD estas frações apresentaram resultados positivos tanto para compostos fenólicos quanto para flavonoides.



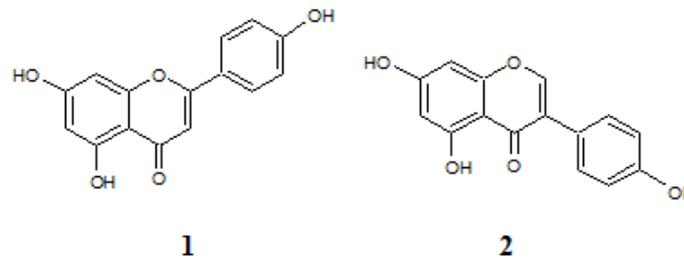
**Figura 4** – CCD das frações que formaram cristais

Foi realizada outra coluna cromatográfica (CC) com a amostra 7J, resultando em 13 frações e em um cristal na fração 9. As frações 7H e 9 foram recrystalizadas em um gradiente crescente de polaridade com hexano : clorofórmio : acetato de etila e posteriormente foi feito a análise de espectrometria de massas (EM) com a amostra 9 (figura 5).



**Figura 5** – Espectro de massas da amostra 9, no modo negativo

O espectro de massas da amostra 9 no modo negativo evidenciou apenas um pico de  $m/z$  269,11, como pode-se verificado na figura 5. Após pesquisas na literatura, pode-se relacionar essa massa com a de duas substâncias, que são isômeros, apresentando estruturas semelhantes: a apigenina, que é uma flavona e a genisteína, que é um isoflavonóide (figura 6). Ressaltando que os isoflavonóides são de ocorrência restrita, quase exclusivamente da família Fabaceae (Lima *et al.*, 2011; Rinaldo *et al.*, 2007). A genisteína foi confirmada por RMN de  $^1\text{H}$  apresentando os seguintes deslocamentos 6,21 (d,  $J = 2,17$ ), 6,33 (d,  $J = 2,17$ ), 6,82 (d,  $J = 8,72$ ), 7,35 (d, 8,72), e 8,73.



**Figura 6-** Estruturas das possíveis substâncias: apigenina (1) e genisteína (2)

#### 4.2 Estudo fitoquímico das cascas de *Hymenolobium sericeum* Ducke

A partir do extrato etanólico das cascas realizou-se uma partição líquido-líquido, assim obtendo 4 frações (Hexano (A),  $\text{CHCl}_3$  (B), AcOEt (C), e MeOH (D)), em seguida foi realizada uma análise do perfil cromatográfico das frações (figura 7). Após essa análise pode-se afirmar que a partição teve uma boa separação, pois observa-se um perfil cromatográfico diferente para cada fração na CCD.

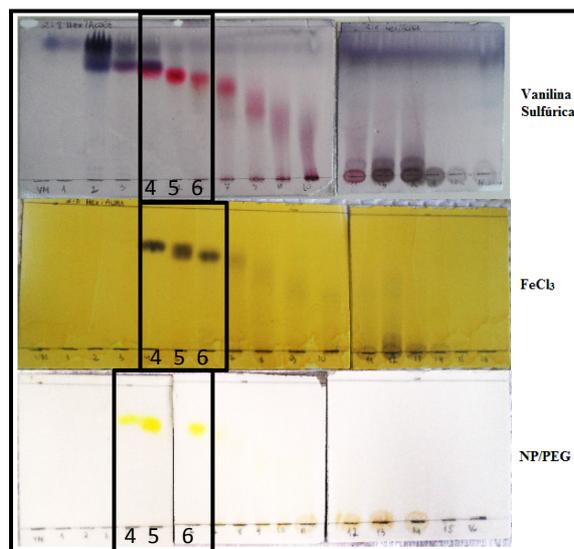


**Figura 7** – CCD das amostras da partição

Foi realizada a análise cromatográfica com todas as frações da partição, usando como reveladores vanilina sulfúrica,  $\text{FeCl}_3$ , NP/PEG e  $\text{DPPH}^\bullet$ , para um estudo bioguiado. A partir desse estudo inicial, obteve-se que as frações B e C apresentaram resultados positivos para flavonoides e para atividade antioxidante.

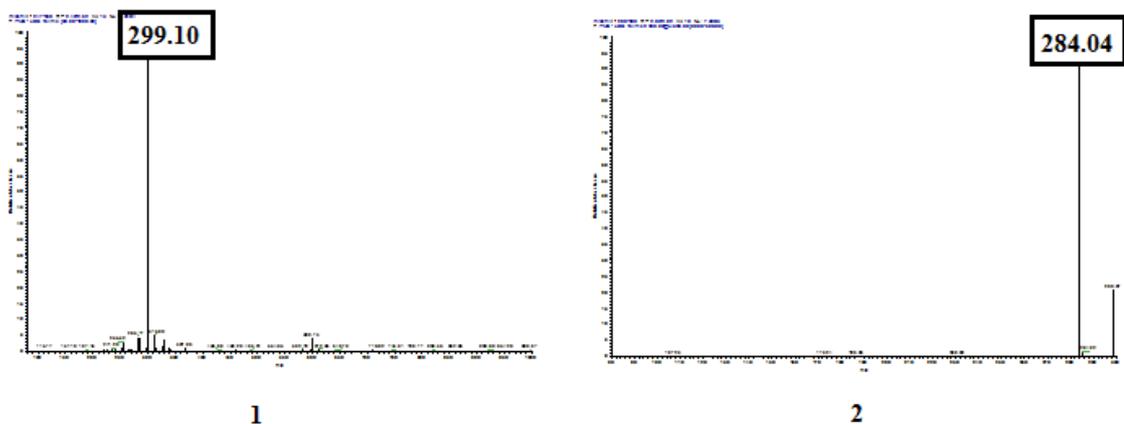
Então com a amostra B fez-se um fracionamento em CC, assim obtendo 17 frações, sendo que três frações (5, 6 e 10) formaram precipitado (cristal). As frações da coluna B foram analisadas por CCD, para análise do perfil das frações, assim foram usados reveladores específicos nessas análises (vanilina sulfúrica,  $\text{FeCl}_3$ , NP/PEG e  $\text{DPPH}^\bullet$ ), para o estudo biomonitorado e análise do fracionamento.

Na figura 8, pode-se observar o resultado do fracionamento, que obteve-se uma boa separação, resultando em frações semi puras e com resultado positivo para compostos fenólicos e flavonóidicos, assim destacando as frações 4, 5 e 6.

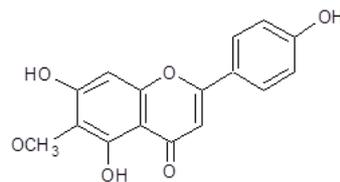


**Figura 8** – Análise cromatográfica das amostras da coluna da amostra B

As amostras 5 e 6 da coluna B, que apresentaram cristais foram recristalizadas e analisadas por EM. Após essa análise observou-se que a amostra 6 era a mais pura, a partir dos espectros gerados das amostras. O EM da amostra 6 mostrou no modo negativo um pico majoritário de  $m/z$  299,10 e a sua fragmentação resultou em um pico de  $m/z$  284,04 (figura 9). Dados que ao serem comparados com a literatura, permite relacionar a substância com o flavonoide 6-metoxiapigenina (Silva, 2008), estrutura ilustrada na figura 10. Essa amostra já foi enviada para análise em RMN de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  uni e bidimensional, para sua elucidação estrutural.



**Figura 9** – Espectro de amostra 6 no modo negativo (1) e fragmentação do íon precursor de  $m/z$  299 (2)



**Figura 10**- Estrutura do flavonoide 6-metoxiapigenina

A amostra em AcOEt (C) da partição, também foi fracionada em CC, obtendo-se 24 frações na qual foram analisadas por CCD. Após realizar a CCD, observou-se um perfil cromatográfico semelhante entre algumas frações, então reuniu-se as frações que apresentaram perfil parecido, resultando em 11 frações. As 11 frações foram analisadas novamente por CCD, verificou que algumas frações estavam puras (3, 4 e 8), essas foram analisadas por EM.

A fração 8 da coluna C segundo a análise realizada da EM, foi a que apresentou-se mais pura apresentando no modo negativo um pico de  $m/z$  289.12, massa que corresponde (epi)catequina (Souza, 2008), resultado que igualmente será confirmado por RMN.

#### 4. CONCLUSÃO

A análise quantitativa da atividade antioxidante foi realizada com os extratos das flores em AcOEt, EtOH e MeOH e com o extrato em EtOH das cascas, devido ao resultado positivo na análise qualitativa. Nessa análise, obteve-se o melhor resultado para o extrato etanólico das cascas, seguido do extrato etanólico das flores. Esse fato pode estar correlacionado a maior porcentagem de compostos fenólicos nos extratos etanólicos, em que obteve-se um teor maior que 30% para o extrato das cascas e para o extrato das flores de aproximadamente 17%.

Na quantificação de flavonoides totais obteve-se uma porcentagem de 15% para o extrato em AcOEt das flores e porcentagens mais baixas nos outros extratos. Pode-se dizer que o teor maior de fenólicos não está relacionado diretamente com a presença de flavonoides, fato que pode ser afirmado pela menor porcentagem de flavonoides nos extratos etanólicos.

O ensaio de atividade antimicrobiana com os extratos levou a resultados negativos, sugerindo que a baixa porcentagem de flavonoides podem estar relacionado a esse resultado, já que existem relatos na literatura dessa atividade para flavonoides. Outra possibilidade seria a ausência de flavonoides bioativos nessa espécie.

O estudo inicial químico das flores de *Hymenolobium sericeum Ducke* levou à obtenção de um flavonoide a genisteína que apresentou pico majoritário de  $m/z$  269 no modo negativo e que foi confirmada por RMN de  $^1H$ . A genisteína que é um isoflavonóide, pode ser considerada um marcador químico da família Fabaceae, já que os isoflavonóides são de ocorrência restrita da família.

O estudo químico da composição do extrato de média polaridade das cascas dessa espécie resultou na obtenção de dois flavonoides, um que apresentou pico majoritário de  $m/z$  299 no modo negativo, sua fragmentação apresentou um pico majoritário  $m/z$  de 284. Dados que corresponde a substância 6-metoxiapigenina. O outro flavonoide apresentou pico no modo negativo de  $m/z$  289 correspondente à (epi)catequina.

Portanto, o estudo fitoquímico e das atividades biológicas da espécie *Hymenolobium sericeum Ducke*, que é espécie símbolo da UFAM, apresenta suma importância, por ser o primeiro relato fitoquímico e das atividades biológicas da espécie e do gênero. Sendo este o estudo que leva a confirmação da presença de substâncias fenólicas, como de flavonoides e quantifica tais substâncias nos extratos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLENSTIEL, T. *et al.* Bioflavonóides attenuate renal proximal tubular cell injury during cold preservation in Euro-Collins and University of Wisconsin solutions. *Kidney Int.*, v. 63, p. 554-563; 2003.

ALVES, C.Q.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P.; VILLAREAL, C.F.; SOARES, M.B.P.; QUEIROZ, L.P.; AGUIAR R.M. Flavonoids and other bioactive phenolics isolated from *Cenostigma macrophyllum* (Leguminosae). *Química Nova* 35 (6) :1137-1140; 2012.

BARREIRO, E.J. Biodiversidade: Fonte potencial para descoberta de novos fármacos. *Química Nova* 32(3): 679-688; 2009.

BARROSO, G.M. Sistemática de angiospermas do Brasil. 2ª ed., Edusp: São Paulo; 1978.

BRAZ-FILHO, R. Contribuição da fitoquímica para o desenvolvimento de um país emergente. *Química Nova* 33(1): 229-239; 2010.

CABRAL, I.S.R.; OLDONI, T.L.C.; PRADO, A.; BEZERRA, R.M.N.; ALENCAR, S.M.; IKEGALI, M.; ROSALEN, P.L. Composição fenólica, atividade antibacteriana e antioxidante de própolis vermelha brasileira. *Química Nova* 32(6): 1523-1527; 2009.

CHANG, C.C et al. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10 (6):178-182; 2002.

CRAVEIRO, A.C.; CARVALHO, D.M.M.; NUNES, R.S.; FAKHOURI R.; RODRIGUES A.S.; SILVA, F.T. Toxicidade aguda do extrato aquoso de folhas de *Erythrina velutina* em animais experimentais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18 (Supl): 739-734; 2008.

DEWICK, P.M. Medicinal Natural Products: a biosynthetic approach. 2nd ed. England: John Wiley & Sons Ltd; 2002.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A. Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica, 2ª ed., Ed. UNESP: São Paulo, 2002.

DEFILIPPS, R.A.; MAINA, S.L.; CREPIN, J. Medicinal plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana). Department of Botany, Natural Museum of Natural History. Smithsonian Institution, Washington, D.C.; 2004. Disponível em <http://www.mnh.si.edu/biodiversity/bdg/medicinal>.

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. 18(2): 258-264; 2008

IGNOATO, M.C.; FABRÃO, R.M.; SCHUQUEL, I.T.A.; BOTELHO, M.F.P; SANTIN, S.M.O.; ARRUDA, M.L.L.; BERSANI-AMADO, C.A.; SOUZA, M.C. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade anti-inflamatória de *Aeschynomene fluminensis* Vell. (Fabaceae). Química Nova 35 (11): 2241-2244; 2012.

JOLY, A. B. Botânica: Introdução a Taxonomia Vegetal. Ed. Nacional: São Paulo, 1993.

LIMA P.F.; YAMAGUCHI L.; KATO M.J.; CHIORATO A.F.; COLOMBO C.A.; CARBONELL S.A.M. Determinação de isoflavonóides em feijão comum para seleção de linhagens com valor nutracêuticos agregado. 5º Congresso de iniciação científica – CIIC, Campinas, SP, 2011.

MALLAVARAPU, G.O. Contribution of medicinal plants to modern medicine. Journal of Medicinal Plants to Modern Medicine 22/4A-23/1A: 572 -578; 2001.

MATTOS, N.F. O Gênero *Hymenolobium* Benth. no Brasil. *Roessleria* 3(1): 13-53; 1979.

MENSOR, L.L.; FABIO, S.M.; GILDOR, G.L.; ALEXANDER, S.R.; TEREZA, C.D.; CINTIA, S.C.; SUZANE, G.L. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Res* 15:127-130; 2001.

MIRANDA, M.L.D.; SOUZA, A.F.; RODRIGUES, E.D.; GARCEZ, F.R.; GARCEZ, W.S.; ABOT A. Constituintes químicos das folhas de *Riedeliella graciliflora* Harms (Leguminosae). *Química Nova* 35 (7): 1306-1311; 2012.

MONTENEGRO, L.H.M.; OLIVEIRA, P.E.S.; CONSERVA, L.M.; ROCHA, E.M.M.; BRITO, A.C.; ARAÚJO, R.M.; TREVISAN, M.T.S.; LEMOS, R.P.L. Terpenóides e avaliação do potencial antimalárico, larvicida, anti-radicalar e anticolinesterásico de *Pouteria venosa* (Sapotaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 16(supl.): 611-617; 2006.

MOURA, A.C.S; VILEGAS, W.; SANTOS, L.C. Identificação de alguns constituintes químicos de *Indigofera hirsuta* LINN. (Fabaceae) por CLAE-IES-EM (TOF) e avaliação da atividade antirradicalar. *Quim. Nova* 34 (7): 1136-1140; 2011.

OLIVEIRA, A.C.; VALENTIM, I.B.; GOULART, M.O.F.; SILVA, C.A.; BECHARA, E.J.H.; TREVISAN, M.T.S. Fontes vegetais de antioxidantes. *Química Nova* 32 (3): 689-702; 2009.

OLIVEIRA, L.Z.; CESARINO, F.; PANTOJA, T.F.; MÔRO, F.V. Aspectos morfológicos de frutos, sementes, germinação e plântulas de *Hymenolobium petraeum*. *Ciência Rural*, v.40, n.8, p.1732-1740; 2010.

PERES, M.T.L.P.; SIMIONATTO, E.S.; HESS, S.C.; BONAVI, V.F.L.; CANDIDO, A.C.S.; CASTELLI, C.; POPPI, N.R.; HONDA, N.K.; CARDOSO, C.A.L.; FACCENDA, O. Estudos químicos e biológicos de *Microgramma vacciniifolia* (Langsd. & Fisch.) Copel. (Polypodiaceae). *Química Nova* 32(4): 897-901; 2009.

POLHILL, R.M.; RAVEN, P.H. *Advances in Legume Systematics. Part 1*, Royal Botanic Gardens, England; 1981.

RINALDO, D.; RODRIGUES, C. M.; MONTORO, P.; PIACENTE, S.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Caracterização por ESI-IT-MS<sup>n</sup> dos metabólitos secundários presentes na infusão de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae). *Resumo da 30ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química (SBQ)*. 2007.

SANTOS, E.L.; COSTA, E.V.; MARQUES, F.A.; VAZ, N.P.; MAIA, B.H.L.N.S.; MAGALHÃES, E.G. Toxicidade e atividade antioxidante de flavonoides das cascas das raízes de *Lonchocarpus filipes*. *Química Nova* 32(9), 2255-2258; 2009.

SILVA, V.C.; ALVES, A.N.; SANTANA, A.; CARVALHO, M.G.; SILVA, S.L.C.; SCHRIPEMA, J. Constituintes fenólicos e terpenóides isolados das raízes de *Andira fraxinifolia* (fabaceae). *Química Nova* 29 (6): 1185-1186; 2006.

SILVA, M.A. Estudo químico e biológico de plantas da família Eriolaceae. Tese de doutorado (Química de Produtos Naturais), Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista: 93 – 98; 2008.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* V.299, p. 152-178; 1999.

SOLER-RIVAR-RIVAS, C.; ESPÍN, J.C.; WISHERS, H.J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. *Phytochem Analysis* 11: 1-9; 2000.

SOUZA, L.M. Aplicações da espectrometria de massas e da cromatografia líquida na caracterização estrutural de biomoléculas de baixa massa molecular. Tese de doutorado (Bioquímica), Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, 2008.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biol. Med.* V. 20, p. 933-956; 1996.

RINALDO, D.; RODRIGUES, C.M.; MONTORO, P.; PLACENTE, S.; PIZZA, C.; VILEGAS, W. Caracterização por ESI-IT-MS<sup>n</sup> dos metabólitos secundários presentes na

infusão de *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae). 30<sup>a</sup> Reunião anual da Sociedade de Química; 2007.

VIRTUOSO, S.; DAVET, A.; DIAS, J.F.G.; CUNICO, M.M.; MIGUEL, M.D.; OLIVEIRA, A.B.; MIGUEL, O.G. Estudos preliminares de atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae (Leguminosae). Revista Brasileira de Farmacognosia, 15; 2005.

