

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GRACE KELLY CORDEIRO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Senna alata* L.
ROXB E *Senna siamea* LAM. (FABACEAE)**

RECIFE

2013

GRACE KELLY CORDEIRO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Senna alata* L.
ROXB E *Senna siamea* LAM. (FABACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de mestre.

Área de Concentração: Avaliação e Obtenção de Produtos Bioativos e Naturais.

Orientador: Prof. Dr. Sebastião José de Melo

Co-orientador: Prof Dr. Haroudo Sátiro Xavier

RECIFE

2013

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Susyleide Brito, CRB4-1141

S586c Silva, Grace Kelly Cordeiro da.
Caracterização química e atividade biológica de senna alata L. ROXB
e senna siamea LAM. (Fabaceae) / Grace Kelly Cordeiro da Silva. –
Recife, 2013.
135 f.: il.; tab.; graf.; 30 cm.

Orientador: Sebastião José de Melo.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.
Inclui referências e anexos.

1. Fabaceae. 2. Senna. 3. Análise química. 4. Análise biológica.
I. Melo, Sebastião Antônio (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (22.ed.) UFPE (CCS 2017-024)

GRACE KELLY CORDEIRO DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Senna alata* L.
ROXB E *Senna siamea* LAM. (FABACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Pernambuco como requisito para obtenção do título de mestre.

Aprovado por:

Prof. Dr. Sebastião José de Melo (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa Dra Janete Magali de Araújo
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Emerson Peter da Silva Falcão
Centro Acadêmico de Vitória – CAV

Data: 13/08/2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
DOUTORADO EM OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE PRODUTOS
NATURAIS E BIOATIVOS**

**ANÍSIO BRASILEIRO DE FREITAS DOURADO
REITOR**

**SÍLVIO ROMERO MARQUES
VICE-REITOR**

**FRANCISCO DE SOUSA RAMOS
PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO
DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**VÂNIA PINHEIRO RAMOS
VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**ANTÔNIO RODOLFO DE FARIA
CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ELBA LÚCIA CAVALCANTI DE AMORIM
VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ALMIR GONÇALVES WANDERLEY
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

**ANA CRISTINA LIMA LEITE
VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

*Dedico essa dissertação ao meu pai Ezequias
Cordeiro (in memoriam). Saudades eternas!
A Maria Gomes, minha mãe, por ser o meu alicerce
aqui na terra.
“Meus maiores passos foram dados porque tive
grandes mãos para me sustentar.”*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela minha existência e capacidade de realizar os meus objetivos.

Aos meus pais, pela formação como pessoa. Em especial a minha mãe, por todo Apoio, Amor, Compreensão e Motivação. Você é peça fundamental nessa conquista. Obrigada por acreditar em mim.

A minha irmã, Jéssica Cordeiro, por toda a ajuda nas longas jornadas de experimentos. Pela força e apoio em todos os momentos difíceis e participação em cada redigir dessa dissertação.

Ao meu orientador Prof. Dr. Sebastião José de Melo, pelos ensinamentos, confiança, dedicação e empenho admirável.

A todos os integrantes do Laboratório de Síntese Química e Produtos Naturais (Isla, Gibson, Antônio, Jéssica, Rômulo, Janaina, Zenaide) que de forma direta ou indireta me ajudaram e me acompanharam durante essa jornada.

Aos amigos e amigas Jéssica Priscila, Tarcyla, Elica, Camila Tavares, Camila CCB, Rafaela, Renata e Douglas por estarem sempre presentes, e pelas bricadeiras descontraídas nos momentos difíceis.

A Rayane do Laboratório de Ecologia Química pela disponibilidade e ajuda na extração e caracterização do óleo essencial.

Ao CNPq, pela concessão de Bolsa de Mestrado.

Muito Obrigada!

“É preciso força pra sonhar e perceber que a estrada vai além do que se vê”. (Los Hermanos)

RESUMO

O uso de produtos naturais na medicina popular como agente terapêutico é conhecido por praticamente todas as civilizações antigas. O gênero *Senna* Mill, é uma importante fonte de substâncias com grande diversidade estrutural, sendo atualmente utilizada como laxantes e purgativas. Diante disso, este trabalho teve como objetivo caracterização química e atividades biológicas do extrato bruto metanólico das folhas de *Senna alata* L. Roxb e *Senna siamea* (Lam.). O perfil fitoquímico foi realizado em cromatografia de camada delgada, com diferentes fases móveis e reveladores. A extração do óleo essencial foi utilizada por hidrodestilação e analisado em cromatografia gasosa acoplada ao espectro de massa (CG/MS). A atividade larvicida do óleo essencial foi avaliada segundo o método recomendado pela Organização Mundial de Saúde, adaptado. A atividade antimicrobiana foi realizada pelo método de difusão em Agar, e identificação da concentração inibitória mínima. Os métodos de Mosman (1983) e Costa-Lotufo et al. (2002) foram utilizados para analisar a atividade hemolítica e citotóxica, respectivamente. O potencial de toxicidade aguda foi avaliado segundo a OECD 423. A metodologia de Rao et al., 1997, modificada, foi utilizado para análise da atividade laxante. A caracterização fitoquímica evidenciou os seguintes metabólitos: açúcares redutores; flavonóides; antraquinonas, triterpenos, cumarinas, monoterpenos e sesquiterpenos, proantocianidinas e leucoantocianidina. Após análise em CG/MS, 03 (três) compostos foram identificados: ácido n-hexadecanóico, fitol e 9,12,15-ácido octadecatrienóico (Z,Z,Z). O óleo essencial da *S. siamea* não apresentou atividade larvicida. Não foi evidenciada atividade antimicrobiana do extrato bruto metanólico das folhas (EBMF) de *S. siamea*. Entretanto o EBMF de *S. alata* apresentou atividade moderada contra *B. subtilis* (AM04), e baixa atividade contra *S. aureus* (AM103) e *S. aureus* (AM1210). Ambos os extratos se mostraram inativos frente à atividade hemolítica e citotóxica. Na toxicidade aguda não houve óbito dos animais após administração da dose 2000mg/kg, com isso, ambos os extratos são considerados atóxicos ou baixa toxicidade. O Extrato metanólico bruto das folhas (EMBF) de *S. siamea* e *S. alata*, nas doses de 62,5mg/kg, 125mg/kg e 250mg/kg, não apresentaram atividade laxante. Estudos mais aprofundados dos extratos são necessários para garantir a segurança e eficácia terapêutica dos mesmos.

Palavras chave: Fabaceae. *Senna*. Análise química. Análise biológica.

ABSTRACT

The use of natural products in folk medicine as a therapeutic agent is known by virtually all ancient civilizations. The genus *Senna* Mill, is an important source of substances with great structural diversity, being currently used as laxatives and purgatives. The objective of this work was to characterize the chemical and biological activities of the crude methanolic extract of the leaves of *Senna alata* L. Roxb and *Senna siamea* (Lam.). The phytochemical profile was performed in thin layer chromatography, with different mobile phases and developers. The extraction of the essential oil was used by hydrodistillation and analyzed by gas chromatography coupled to the mass spectrum (CG / MS). The larvicidal activity of the essential oil was evaluated according to the method recommended by the World Health Organization, adapted. The antimicrobial activity was performed by the agar diffusion method, and identification of minimal inhibitory concentration. The methods of Mosman (1983) and Costa-Lotufo et al. (2002) were used to analyze the hemolytic and cytotoxic activity, respectively. The acute toxicity potential was evaluated according to OECD 423. The methodology of Rao et al., 1997, modified, was used to analyze the laxative activity. The phytochemical characterization showed the following metabolites: reducing sugars; Flavonoids; Anthraquinones, triterpenes, coumarins, monoterpenes and sesquiterpenes, proanthocyanidins and leucoanthocyanidin. After analysis in CG / MS, 03 (three) compounds were identified: n-hexadecanoic acid, phytol and 9,12,15-octadecatrienoic acid (Z, Z, Z). The essential oil of *S. siamea* showed no larvicidal activity. There was no evidence of antimicrobial activity of the crude methanolic leaf extract (EBMF) of *S. siamea*. However, *S. alata* EBMF showed moderate activity against *B. subtilis* (AM04), and low activity against *S. aureus* (AM103) and *S. aureus* (AM1210). Both extracts were inactive against hemolytic and cytotoxic activity. In acute toxicity, the animals did not die after administration of the 2000mg / kg dose, with both extracts being considered nontoxic or low toxicity. The crude methanolic extract of the leaves (EMBF) of *S. siamea* and *S. alata*, at doses of 62.5mg / kg, 125mg / kg and 250mg / kg, presented no laxative activity. Further studies of extracts are necessary to ensure the therapeutic safety and efficacy of the extracts.

Keywords: Fabaceae. *Senna*. Chemical analysis. Biological analysis.

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Referencial Teórico

Figura 1	Flor, Folha e Fruto (<i>Senna alata</i> L. Roxb.).....	26
Figura 2	Flor (<i>Senna alata</i> L. Roxb.).....	26
Figura 3	Floração e frutificação (<i>Senna siamea</i> Lam).....	28
Figura 4	Flor - <i>Senna siamea</i> Lam.....	29
Figura 5	Inflorescência - <i>Senna siamea</i> Lam.....	29
Figura 6	Esquema simplificado das rotas biossintéticas para produção de Compostos fenólicos, isoprenóides e alcalóides.....	30
Figura 7	Via metabólica do chicamato: Compostos derivados do ácido cinâmico.....	30
Figura 8	Biossítese mista (via do chiquimato e via do acetato): origem dos flavonóides e derivados.	31
Figura 9	Estrutura química do núcleo fundamental das antraquinonas.....	32
Figura 10	Estrutura química dos antraquinônicos: Relação estrutura – atividade laxativa/purgativa.....	33
Figura 11	Estrutura química dos senodídeos A e B.....	34
Figura 12	Estrutura Química do apiol e safrol.....	35
Figura 13	Corte Transversal do Intestino.....	38
Figura 14	Controle neural da parede intestinal, mostrando (1) os plexos mioentérico e submucoso (fibras pretas); (2) o controle extrínseco desses plexos pelo sistemas nervosos simpático e parassimpático (fibras vermelhas); e (3) fibras sensoriais passando do epitélio luminal e da parede intestinal para os plexos entéricos, depois para os glânglios pré-vertebrais da medula espinhal e diretamente para a medula espinhal e o tronco cerebral (fibras pontilhadas).....	38
Figura 15	Locais e mecanismos de ação que podem ser sítios para ação de compostos naturais na célula bacteriana.....	44

Capítulo I

Figura 1	Teste de afrogenicidade indicando ausência de saponinas no extrato de <i>Senna siamea</i> e <i>Senna alata</i> . Setas apontam ausência de espumas	
-----------------	--	--

	abundante e persistente.....	52
Figura 2	Cromatograma para a identificação de flavonóides. 1- EBMF <i>Senna alata</i> ; 2- EBMF <i>Senna alexandrina</i> ; 3- EBMF <i>Senna aiamea</i> . A- Alcachofra(padrão); Q – Quercetina.....	53
Figura 3	Cromatograma para a identificação de monoterpenóides, sesquiterpenóides e diterpenóides. 1- EBMF <i>Senna alata</i> ; 2- EBMF <i>Senna alexandrina</i> ; 3- EBMF <i>Senna siamea</i> . P- Padrão (Timol).....	54
Figura 4	Cromatograma para a identificação de açúcares redutores. 1- EBMF <i>S. alata</i> ; 2- EBMF <i>S. alexandrina</i> ; 3- EBMF <i>S. siamea</i> ; padrão X: xilose; F: frutose; G: glicose.....	54

Capítulo II

Figura 1	Cromatograma (CG/MS) do óleo essencial das folhas de <i>Senna siamea</i> ...	62
Figura 2	Estrutura do Ácido n-Hexadecanóico (C ₁₆ H ₃₂ O ₂).....	63
Figura 3	Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 41,441 min no cromatograma apresentado na fig. 1.....	63
Figura 4	Estrutura do Fitol (C ₂₀ H ₄₀ O).....	64
Figura 5	Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 44.931min no cromatograma apresentado na fig 1.....	65
Figura 6	Estrutura do Ácido 9,12,15-Octadecatrienóico.....	66
Figura 7	Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 45.478min no cromatograma apresentado na fig 1.....	66

Capítulo III

Figura 1	Disposição das amostras na placa de petri durante o ensaio de poços.....	79
Figura 2	Ensaio antimicrobiano por técnica de poços frente a <i>E. aureus</i> AM 1272.....	79
Figura 3	Ensaio antimicrobiano por técnica de poços frente a <i>E. aureus</i> AM 1012.....	80
Figura 4	Descrição da distribuição das drogas na microplaca de 96 poços durante análise antimicrobiana por determinação da CMI.....	80

Capítulo IV

Figura 1 Fotomicrografias do fígado dos grupos *S. siamea* (FS), controle (FC) e *S. alata* (FA) **FS:** Observa-se veia centrolobular congestionada de sangue (**v**) e finas vacuolizações citoplasmáticas nos hepatócitos (**setas finas e curvas**). Presença de ducto biliar (**db**) e capilares sinusóides preservados (setas retas finas). **FC:** observa-se veia centrolobular (**v**), hepatócitos (**setas brancas curtas**) e capilares sinusóides (**setas finas**) preservados, respectivamente. **FA:** Identifica-se veia centrolobular (**v**), intensa atividade mitótica nos hepatócitos (**cabeças de seta**), discretas vacuolizações no citoplasma dos hepatócitos (**setas finas e curvas**) e presença de capilares sinusóides (**setas finas retas**). H.E.: 400X..... 87

Figura 2 Fotomicrografias do rim dos animais tratados com EMF de *S. siamea* (RS), controle (RC) e tratado com EMF de *S. alata* (RA). **RS:** Observa-se presença de glomérulos renais e vaso sanguíneo congestionado de sangue, espaços urinários conservados (**G**) e túbulos coletores também conservados na região medular do rim (**estrelas**). **RC:** nota-se glomérulos renais na cortical (**G**) com espaços subcapsulares preservados e túbulos coletores (**estrelas**) sem alterações na região medular. **RA:** observa-se tufo de capilares glomerulares congestionados de sangue (**G**), com espaços subcapsulares ainda conservados. **B**) Túbulos coletores preservados (**estrelas**). H.E.: 400X..... 88

Figura 3 Fotomicrografias do baço dos animais tratados com EBMF de *S. siamea* (BS), controle (BC) e tratado com EBMF de *S. alata* (BA). **BS:** Nota-se um conglomerado de nódulos linfáticos mais centralizados (**setas retas**) alguns irregulares dispersos na periferia. **BC:** Observa-se presença de nódulos linfáticos preservados na periferia e de forma agrupada no interior do órgão linfóide (**setas longas**). **BA:** Observa-se presença de nódulos linfáticos aumentados (ativados) próximos à periferia e outros com forma variada no interior do órgão linfóide (**setas longas**). H.E.: 100X..... 90

LISTA DE TABELAS

Referencial Teórico

Tabela 1	Classificação Botânica (<i>Senna alata</i> L. Roxb.).....	25
Tabela 2	Classificação Botânica (<i>Senna siamea</i> Lam.).....	27
Tabela 3	Características de alguns metabólitos secundários de plantas medicinais.....	32

Capítulo I

Tabela 1	Sistemas cromatográficos empregados na prospecção fitoquímica do EBMF de <i>Senna alata</i> e <i>Senna siamea</i>	51
Tabela 2	Resultado da Avaliação Fitoquímica do EBMF de <i>Senna alata</i> e <i>Senna siamea</i>	52

Capítulo II

Tabela 1	Identificação dos constituintes majoritários do óleo essencial obtido de folhas de <i>Senna siamea</i>	62
Tabela 2	Eficiência do óleo essencial das folhas de <i>Senna siamea</i> , sobre a mortalidade das larvas (<i>Aedes aegypti</i> .) n = 20.....	67

Capítulo III

Tabela 1	Atividade antimicrobiana do extrato metanólico bruto das folhas (EMBF) de <i>S. alata</i> (L.) Roxb e <i>S. siamea</i> (Lam.).....	75
Tabela 2	Concentração Inibitória Mínima do EMBF de <i>S. alata</i> (L.) Roxb sobre as linhagens de <i>S. aureus</i> e <i>B. subtilis</i>	76
Tabela 3	Atividade Citotóxica e Hemolítica do EMBF de <i>S. alata</i> (L.) Roxb e <i>S. siamea</i> (Lam.).....	77

Capítulo IV

Tabela 1	Sinais clínicos da toxicidade observada em camundongos albinos Swiss machos, tratados com dose 2000mg/kg do EBMF da <i>Senna siamea</i> e <i>Senna alata</i> , por via oral.....	94
-----------------	--	----

LISTA DE GRÁFICOS

Capítulo IV

- Gráfico 1** Variação do peso (g) do fígado dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EBMF *Senna alata* (2000mg/kg) e EBMF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre grupo tratado em relação ao grupo controle..... 86
- Gráfico 2** Variação do peso (g) do rim dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EBMF *Senna alata* (2000mg/kg) e EBMF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre o grupo tratado em relação ao grupo controle..... 88
- Gráfico 3** Variação do peso (g) do baço dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EBMF *Senna alata* (2000mg/kg) e EBMF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre grupo tratado com relação ao grupo controle..... 89
- Gráfico 4** Efeito laxativo do EBMF *Senna siamea*, utilizando óleo rícino (agente diarréico) e Atropina (agente constipante). Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. (#) variação estatisticamente significativa com o grupo atropina. (+) variação estatisticamente significativa com o grupo óleo rícino..... 91
- Gráfico 5** Efeito laxativo do EBMF *Senna alata*, utilizando óleo rícino (agente diarréico) e Atropina (agente constipante). Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. (#) variação estatisticamente significativa com o grupo atropina. (+)

variação estatisticamente significativa com o grupo óleo
rícino..... 92

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AcOH - Ácido acético

AcOEt = Acetato de etila

AF - Ácido fórmico

AcOH - Etóxi-etano

ANOVA- análise de variância

°C – Graus Celsius

CCEN- Centro de Ciências Exatas e da Natureza

CCD- cromatografia em camada delgada

CEEA- Comitê de Ética em Experimentação Animal

CG/EM- Cromatografia gasosa/ espectrometria de massa

CIM – Concentração Inibitória Mínima

DL₅₀. Dose letal que mata 50% da população

DMSO: Dimetilsulfóxido

EBMF-Extrato bruto metanólico das folhas

Et₂O-Tolueno

FPM- Força próton motriz

H₂O – Água

i- Diferença do número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois da amostra com o hidrocarboneto que elui antes

IPA- Instituto Agrônomo de Pernambuco

IR- Índice de retenção de Kratz.

kg- Quilograma

KI: Índice de retenção Kováts

KOH- Hidróxido de Potássio

LAM - Laboratory for Microbiological Analysis

OECD - Organisation for Economic Co-operation and Development

OE- Óleo essencial

OMS- Organização Mundial de Saúde

Me₂CO - Acetona

MeOH – Metanol

mg- Miligrama

mL- Mililitro

N- Número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes da amostra.
n-BuOH = n-butanol
NEU- Ácido etilborilaminoéster a 1% em etanol
NIST - National Institute of Standards and Technology
MTT - brometo de [3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio]
ppm- partes por milhão
SNC- Sistema nervoso central
SNE- Sistema nervoso entérico
TGI- Trato gastrointestinal
trhA - Tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes da amostra.
trhD: Tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois da amostra.
Trx - Tempo de retenção do composto
t'RX: Tempo de retenção ajustado de do composto de interesse
t'RZ: Tempo de retenção ajustado de número de átomos de carbono do hidrocarboneto
com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção do composto
de interesse
t'RZ +1: Tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção
imediatamente posterior ao tempo de retenção do composto de interesse
TPPO₄ = Tampão fosfato
TTR: Tetraciclina
TTZ- Trifeniltetrazólio
UFRPE- Universidade Federal Rural de Pernambuco
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco
µg – Micrograma
µL – Microlitro
UV- Ultravioleta
v/v – volume por volume
X: Composto de interesse
Z: Número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção
imediatamente anterior ao tempo de retenção do composto de interesse
% - percentagem

SUMÁRIO

Pág.

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	
	2.1. Objetivo Geral.....	21
	2.2. Objetivos Específicos.....	21
3	REFERENCIAL TEÓRICO	
	3.1. Aspecto Botânico.....	22
	3.1.1 Família Leguminosae (ou Fabaceae).....	22
	3.1.1.2 Importância Agrícola e econômica.....	23
	3.1.2 Subfamília: Caesalpinioideae.....	23
	3.1.3 <i>Senna</i> Mill.....	24
	3.1.4 Espécies.....	25
	3.1.4.1 <i>Senna alata</i> L. Roxb.....	25
	3.1.4.2 <i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby.....	27
	3.2 Metabólitos Secundários.....	29
	3.2.1 Antraquinonas.....	32
	3.2.2 Metabólitos Secundários do gênero <i>Senna</i>	33
	3.3 Toxicologia.....	35
	3.3.1. Toxicidade aguda.....	36
	3.3.2. Estudos da toxicidade do gênero <i>Senna</i>	36
	3.4 Trato Gastrointestinal, Constipação Intestinal e Agentes Laxativos....	37
	3.4.1 Constipação Intestinal.....	40
	3.4.2. Agentes Laxantes.....	40
	3.4.3. Atividade Laxante do gênero <i>Senna</i>	42
	3.5 Antimicrobianos.....	43
	3.5.1 Atividade Antimicrobiana do gênero <i>Senna</i>	44
4	CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO BRUTO METANÓLICO DAS FOLHAS DE <i>Senna alata</i> (L.) Roxb e <i>Senna siamea</i> LAM (FABACEAE)	46

5	CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA (<i>Aedes aegypti</i>) DO ÓLEO ESSENCIAL DE <i>Senna siamea</i> LAM. (FABACEAE).....	56
6	CAPÍTULO III: ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, HEMOLÍTICA E CITOTÓXICA DO EXTRATO METANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE <i>Senna alata</i> (L.) Roxb e <i>Senna siamea</i> LAM. (FABACEAE).....	69
7	CAPÍTULO IV: AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE LAXANTE DO EXTRATO METANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE <i>Senna siamea</i> (Lam.) e <i>Senna alata</i> (L.) Roxb	81
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	95
	REFERÊNCIAS.....	97
	ANEXOS.....	133
	Anexo A – Folha de aprovação do Comitê de Ética.....	134
	Anexo B – Ficha de Identificação Botânica.....	135

1. INTRODUÇÃO

A terapêutica moderna, composta de um grande número de medicamentos com ações específicas sobre receptores, enzimas e canais iônicos, não teria sido possível sem o suporte dos produtos naturais, especialmente daqueles provenientes das plantas superiores, das toxinas animais e dos micro-organismos. O uso de produtos naturais na medicina popular, como agente terapêutico é conhecido a várias gerações. Muitas culturas utilizaram estes produtos por serem a principal, ou mesmo a única matéria prima, para a elaboração de medicamentos, permitindo o avanço na descoberta de agentes terapêuticos contra doenças infecciosas, cânceres, doenças crônicas, doenças parasitárias e outras. O valor dos produtos naturais está claramente reconhecido, e os desafios são identificar novos compostos bioativos e elucidar seus mecanismos de ação (CALIXTO, 2001).

O conhecimento sobre plantas medicinais simboliza muitas vezes o único recurso terapêutico de muitas comunidades e grupos étnicos. Ainda hoje nas regiões mais pobres do país e até mesmo nas grandes cidades brasileiras, plantas medicinais são comercializadas em feiras livres, mercados populares e encontradas em quintais residenciais (MACIEL et al., 2002).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da humanidade não têm acesso ao atendimento primário de saúde, por estarem muito distantes dos centros de atendimento ou por não possuírem recursos para adquirir os medicamentos prescritos (AKERELE, 1993). Para essas populações, as terapias alternativas são as principais formas de tratamento, e as plantas medicinais, os principais medicamentos (MENGUE et al., 2001; RITTER et al., 1985; MENDONÇA-FILHO e MENEZES, 2003; PEREIRA et al., 2004; VENDRUSCOLO et al., 2005; CARLINI et al., 2006; AGRA et al., 2007; BIAVATTI et al., 2007).

É reconhecida a importância dos produtos naturais, incluindo aqueles derivados de plantas, no desenvolvimento de modernas drogas terapêuticas (CALIXTO, 1997). As plantas medicinais são importantes para a pesquisa farmacológica e o desenvolvimento de drogas, não somente quando seus constituintes são usados diretamente como agentes terapêuticos, mas também como matéria-prima para a síntese, ou modelos para compostos farmacologicamente ativos (WHO, 1998).

No setor da medicina, as plantas tropicais fornecem material para a produção de analgésicos, tranqüilizantes, diuréticos, laxativos e antibióticos entre outros. A comercialização mundial dos produtos secundários soma, em média, 200 milhões de dólares por ano (MEYERS 1983; PRINCIPE 1985).

No Brasil, encontra-se a maior diversidade biológica do mundo, contando com uma rica flora, despertando interesses de comunidades científicas internacionais para o estudo, conservação e utilização racional destes recursos (ALMEIDA et al. 1998). É o país detentor da maior parcela da biodiversidade, em torno de 15 a 20% do total mundial, com destaque para as plantas superiores. Além de seu uso como substrato para a fabricação de medicamentos, é também utilizado em práticas populares e tradicionais como remédios caseiros e comunitários, processo conhecido como medicina tradicional. Além desse acervo genético, o Brasil detém uma rica diversidade cultural e étnica que resultou em um acúmulo considerável de conhecimentos e tecnologias tradicionais, passados de geração a geração, entre os quais se destaca o vasto acervo de conhecimentos sobre manejo e uso de plantas medicinais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Neste sentido, compreende-se que o Brasil, com seu amplo patrimônio genético e sua diversidade cultural, têm em mãos a oportunidade para estabelecer um modelo de desenvolvimento próprio e soberano na área de saúde utilizando plantas e fitoterápicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Embora o nosso país possua a maior diversidade vegetal do mundo, com cerca de 60.000 espécies vegetais superiores catalogadas (PRANCE, 1977), apenas 8% foram estudadas para pesquisa de compostos bioativos e 1.100 espécies foram avaliadas em suas propriedades medicinais (GUERRA et al., 2001). Sendo assim, as pesquisas realizadas para avaliação do uso seguro de plantas medicinais e fitoterápicos no Brasil ainda são incipientes, assim como o controle da comercialização pelos órgãos oficiais em feiras livres, mercados públicos ou lojas de produtos naturais (JUNIOR e PINTO; 2005).

O gênero *Senna* Mill. pertence à tribo Cassieae Bronn, subtribo Cassinae Irwin & Barneby, juntamente com o gênero *Cassia*, são fontes importantes de substâncias químicas com grande diversidade estrutural na família Fabaceae. Espécies do gênero *Senna* são utilizadas tradicionalmente como laxantes e purgativas (*Senna alexandrina* Mill, syn. *Cassia angustifolia* Vahl, *Senna acutifolia* Delile) e como corantes (*Senna cernua* (Balbis) I. & B., *Senna multijuga* (L. C. Rich.) I. & B (SÁ, et al 2007). Atividade laxativa comparável ao padrão bisacodil (princípio ativo do Lacto-purga®) e anti-inflamatória similar ao diclofenaco de sódio foi observada para o extrato das folhas de *Senna macranthera* (NOGUEIRA, 2009). Outras atividades relevantes como antimicrobiana, analgésica, antiparasitária, inseticida, antitumoral e hepatoprotetora são comprovadas para várias espécies do referido gênero. (VIEGAS, et al. 2006; TAKKIS, et al. 2009; MACEDO, et al. 2009)

Há uma escassez de artigos científicos que avaliem eficiência, potencial terapêutico e a segurança de medicamentos à base de produtos naturais (CALIXTO, 2000). Minuciosos estudos ainda se fazem necessários para se investigar a atividade biológica de extratos brutos das plantas e sua relação com os diferentes constituintes químicos. (ELVIN-LEWIS, 2001).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Realizar estudos de caracterização química e atividade biológica da *Senna alata* L. ROXB e *Senna siamea* (LAM.).

2.2. Objetivos Específicos

- Coleta do material botânico e preparação do extrato metanólico bruto das folhas de *Senna alata* L. ROXB e *Senna siamea* (LAM.);
- Caracterização fitoquímica do extrato metanólico bruto das folhas da *Senna alata* L. ROXB e *Senna siamea* (LAM.);
- Extração e caracterização química do óleo essencial de *Senna siamea* (LAM.), bem como, a avaliação da atividade larvicida;
- Investigar a toxicidade aguda e determinar o valor da DL₅₀, em camundongos por via oral, assim como o potencial citotóxico e hemolítico;
- Avaliar a atividade laxante do extrato metanólico das folhas de *Senna alata* L. ROXB e *Senna siamea* (LAM.);
- Avaliar a atividade antimicrobiana de *Senna alata* L. ROXB e *Senna siamea* (LAM.).

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1. Aspecto Botânico

3.1.1. Família Leguminosae (ou Fabaceae)

A Família Leguminosae Juss. ou Fabaceae Lindl. (Sensu APGII) é a terceira maior família de angiospermas, compreendendo cerca de 727 gêneros e 19.325 espécies, ficando atrás apenas Orchidaceae e Asteraceae (LEWIS et. al, 2005). São encontradas em florestas tropicais e matas temperadas com um clima sazonalmente seco ou árido. Porém, muitas espécies podem colonizar as terras áridas e marginal por causa de sua capacidade de "transformar" o nitrogênio atmosférico por meio de uma associação simbiótica com bactérias, conhecidas como rizóbios. Sendo essa apenas uma das várias maneiras em que as leguminosas obtêm altos níveis de nitrogênio para atender a exigências do seu metabolismo (MCKEY, 1994; SPRENT, 2001)

Trata-se de uma família cosmopolita, ocorrendo desde os picos das serras montanhosas até o litoral arenoso, da floresta tropical úmida até desertos, inclusive em ambientes aquáticos, mas os centros de diversidade diminuem a partir do distanciamento da linha do Equador (LEWIS 1987).

Apresenta hábito variado, desde ervas perenes até árvores de grande porte, folhas, em geral compostas, inflorescência racemosa, flores com corola dialipétala e zigomorfa, com exceção das Mimosoideae, que possuem corola gamopétala, de simetria radiada, frutos do tipo legume e suas variações, como legume bacóide, nucóide e samaróide, lomento, folículo, sâmara e drupa (BARROSO et al. 1991; BARROSO et al. 1999). O monofiletismo da família foi confirmado por CHAPPILL (1995) e DOYLE et al. (2000), pela presença de folhas compostas, com pulvinos e de uma pétala adaxial diferenciada, ovário monocarpelar e frutos do tipo legume.

No Brasil ocorrem 200 gêneros e 1.500 espécies da família Fabaceae. Presente na maioria dos ecossistemas brasileiros, é relatada como a família botânica mais bem representada na caatinga, com 293 espécies em 77 gêneros, constituindo aproximadamente um terço de todos os vegetais deste bioma. (CÓRDULA, 2008; MELO-PINA, et al 1999)

Segundo Souza e Bortoluzzi, 2013, encontram-se distribuídas nas regiões: Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins); Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe); Centro-oeste

(Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso); Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo); Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina).

3.1.1.2. Importância Agrícola e econômica

Demonstraram importância agrícola por milhares de anos, começando com a domesticação de lentilhas (*Lens esculenta*) no Irã datando de 9.500 a 8.000 anos atrás, o seu uso como fonte de alimento durante a pré-história da América do Sul e seu uso pelo Império Romano como fonte de alimento e para a melhoria do solo (GRAHAM e VANCE, 2003). Hoje os legumes são uma fonte cada vez mais valiosa de alimentos não apenas para os seres humanos, sendo responsável por 27% da produção agrícola primária do mundo, mas também para animais de criação (GRAHAM e VANCE, 2003). As leguminosas foram cultivadas em mais de 13% da terra arável total cultivada no mundo em 2004 (GEPTS et al., 2005). Leguminosas para grão só contribuem 33% das necessidades dietéticas de proteína para seres humanos, enquanto a soja (*Glycine max*) e amendoim (*Arachis hypogaea*) fornecem mais de 35% de óleo vegetal processado do mundo e uma rica fonte de proteína (GRAHAM e VANCE, 2003).

O potencial econômico dessa família é incontestável, pois fornece madeira, óleo e resina de boa qualidade, seus frutos e sementes são consumidos como alimentos, produzem matéria prima para perfumes, tinturas e fármacos, sendo muitas espécies utilizadas como ornamental (LEWIS e OWEN 1989; LEWIS 1987). Segundo Lima et al. (1994), diversas espécies de Leguminosae vêm sendo empregadas como adubo natural graças ao seu potencial de associação com bactérias capazes de fixar o nitrogênio.

3.1.2 Subfamília: Caesalpinioideae

Compreende 171 gêneros e 2.250 espécies (LEWIS et al. 2005), abundantes na América do Sul, África tropical e sudeste da Ásia (COWAN 1981). Segundo BARROSO et al. (1991), as espécies nativas correspondem a 64 gêneros e 790 espécies. Nos Campos Rupestres a subfamília está representada por sete gêneros e 94 espécies (GARCIA e DUTRA 2004). Distingue-se pelas folhas pinadas ou bipinadas, raramente simples ou 1-folioladas; flores geralmente zigomorfas, 4-5-meras, com sépalas livres (exceto em Cercideae), sendo a pétala adaxial sobreposta pelas pétalas laterais adjacentes, quando estas estão presentes; o legume é o tipo de fruto mais freqüente e as sementes não apresentam ranhura hilar e geralmente possuem o eixo da radícula reto (COWAN 1981; BARROSO et al. 1999).

3.1.3 *Senna* Mill.

É o segundo maior gênero da tribo Cassieae subtribo Cassiinae com aproximadamente 300 espécies de distribuição pantropical. Nas Américas, está representado por cerca de 200 espécies (IRWIN e BARNEBY 1982, LEWIS 2005), 80 das quais registradas para o Brasil (SOUZA e BORTOLUZZI 2012).

O gênero pode ser diagnosticado pelas flores amarelas, usualmente assimétricas, enantiofilas, sem bractéolas no pedicelo, com androceu heteromórfico e anteras basifixas, bem como folhas comumente com nectários entre os pares de folíolos e frutos predominantemente indeiscentes (IRWIN e BARNEBY 1982).

A subtribo Cassinae compreende três gêneros: *Cassia* L., *Senna* e *Chamaecrista* Moench (IRWIN e BARNEBY 1982). As espécies de *Chamaecrista* e *Senna* eram incluídas em *Cassia* s.l. até o tratamento taxonômico de Irwin e Barneby (1981), quando estes gêneros foram separados. *Senna* distingue-se de *Cassia* principalmente pelos filetes retos, mais curtos ou até duas vezes o comprimento das anteras, pelas anteras basifixas e pela presença de nectários extraflorais na maioria das espécies. Por outro lado, *Senna* difere de *Chamaecrista* principalmente pela ausência de bractéolas (excepcionalmente presentes), pelo androceu zigomorfo e pelos legumes que podem ser indeiscentes (IRWIN e BARNEBY 1982).

Senna possui taxonomia relativamente estudada, sendo o trabalho de Irwin e Barneby (1982) o mais abrangente para o gênero por reconhecer 260 espécies agrupadas em seis seções e 35 séries. No entanto, a maioria das seções e séries reconhecidas para *Senna* não é monofilética conforme MARAZZI et al. (2006).

Após o estudo de Irwin e Barneby (1982), contribuições à taxonomia das espécies brasileiras de *Senna* são escassas e o gênero teve sua taxonomia tratada apenas para a flora do estado da Bahia (LEWIS 1987), de Santa Catarina (BORTOLUZZI 2004), do Rio Grande do Sul (RODRIGUES et al. 2005) e de Pernambuco (LIMA 1999). Além desses estudos, referências taxonômicas, biogeográficas e ecológicas sobre espécies de *Senna* são encontradas nos estudos florísticos pontuais de FERNANDES (1962), ANGELY (1965), LEWIS e OWEN (1989), ALVES e SARTORI (2009), QUEIROZ (2009), SILVA e TOZZI (2010), entre outros.

Segundo Gupta e Singh (1991), espécies do gênero *Senna* são ricas em flavonoides, antraquinonas e polissacarídeos. Também já foram relatados para esse gênero esteroides, alcaloides piperidínicos, isoquinolinas, cromonas, lactonas, estilbenos e triterpenos (ALEMAYEHU e ABEGAZ, 1996; ALEMAYEHU et al., 1998; VALENCIA et al., 2000).

Espécies do gênero *Senna* são conhecidas pela sua utilização popular em algumas regiões da Índia, Ásia e África, como laxativos e purgativos. Estudos farmacológicos de algumas espécies comprovaram sua propriedade antibacteriana (SAMMY et al, 2000), antifúngica (PALAMICHAMY e NAGARAGAN, 1990), anti-inflamatória (CUELLAR et al, 2001), hepatoprotetora (JAFRI et al, 1999) e antimalárica (TONA et al, 1999), comprovando assim o potencial farmacológico desse gênero.

3.1.4 Espécies

3.1.4.1. *Senna alata* L. Roxb.

Tabela 1: Classificação Botânica (*Senna alata* L. Roxb.)

Família	Fabaceae Lindl (Leguminosae)
Subfamília	Caesalpinieae
Gênero	<i>Senna</i> Mill
Espécie	<i>Cassia alata</i> L. Roxb

Fonte: Tropicos.org, Jardim Botânico de Missouri. 09 de julho de 2013
<<http://www.tropicos.org/Name/13032838>>

Senna alata (L.) Roxb. (= *Cassia alata* L.). É nativo da América Central e encontrado principalmente nas Áreas das Caraíbas, mas também foi introduzida em muitos países tropicais e ilhas, independentemente do continente. É um arbusto anual ou bianual, 1-4 m de altura, preferindo áreas ensolaradas e úmidas. As folhas são verde-amareladas, largas, com 5-14 pares de folíolos (5 - 21 × 2-13 cm). Flores zigomorfas amarelo brilhante, em forma de cacho ereto, geralmente simples. Frutos, medindo cerca de 10-16 × 1,5 centímetros, marrom quando maduro e contendo numerosas (até 60) sementes em forma de diamante (FOURNET, 2002).

Espécie considerada daninha, de crescimento rápido, conhecida popularmente como mata-pasto na região Norte do Brasil. É frequente em áreas de pastagens, arredores de estradas e terrenos baldios, em quase todo o Brasil, principalmente em lugares úmidos, como a região de Belém (LORENZI, 2000; PLANTAMED, 2013).

Em Cuba, Camarões, no Brasil, na Índia e outros países, suas folhas, cascas, flores e raízes podem ser utilizadas na medicina popular, por suas propriedades anti-herpética,

febrífuga, antianêmica, antiblenorrágica, antinefrítica, antídota, antimicótica, diurética, parasiticida, laxante, e contra doenças de pele (BARRESE PÉREZ & HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, 2002; AWAL et al., 2004; BARRESE PÉREZ et al., 2005; PIEME et al., 2006; PLANTAMED, 2013).



Figura 1: Flôr, Folha e Fruto (*Senna alata* L. Roxb.)
(Foto de: photograph by H. Joseph)



Figura 2: Flôr (*Senna alata* L. Roxb.)
Fotógrafo Tariq stevart, MBG; Fonte Projeto Mina Mabounié

3.1.4.2 *Senna siamea* (Lam.) H.S. Irwin & Barneby

Tabela 2: Classificação Botânica (<i>Senna siamea</i> Lam.)	
Família	Fabaceae Lindl (Leguminosae)
Subfamília	Caesalpinieae
Gênero	<i>Senna</i> Mill
Espécie	<i>Senna siamea</i> (Lam.)

Fonte: Tropicos.org. Jardim Botânico de Missouri. 09 de julho de 2013
<<http://www.tropicos.org/Name/13048426>>

É uma espécie arbórea originária da Tailândia, sudeste da Ásia, aclimatada a região nordeste sendo normalmente empregada na arborização urbana. É uma Poaceae pertencente à subfamília Caesalpinoideae, conhecida popularmente como Cássia-de-sião. Planta de tamanho médio que atinge 5m de altura em condições áridas sendo que raramente excede 20m de altura e 50cm de diâmetro a altura do peito (JENSEN, 1995). Tem sido cultivada em países do sudeste asiático para controle de erosão, como quebra-ventos, abrigos vivos, lenha e madeira para poste (DUTRA, et al 2007).

Flores com coloração amarela, em panículas piramidais axilares grandes, de 20 a 30 centímetros de comprimento e 13 cm de largura (LITTLE e WADSWORTH, 1964). São compostas por cinco sépalas côncavas, cor amarelo-esverdeada, coberto de pêlos finos e 8 mm de comprimento, e cinco pétalas amarelas, dispersos e arredondadas sobre o mesmo tamanho, de 15 a 20 mm de comprimento. Tem sete estames de comprimento variável, três de tamanho menor e estéril, e um pistilo com um ovário, verde pálido, finamente macio, e estilo curvado (LITTLE, 1983).

Os frutos, geralmente produzidos em abundância, consistindo de vargens finas, de cor marrom escuro quando maduro, de 5 a 25 centímetros de comprimento e 12-20 mm de largura. A bainha contém até 25 sementes (LITTLE, 1983; WORTHINGTON, 1959)

As sementes são pequenas, achatadas, em forma de feijão (8 mm de comprimento), na cor marrom escuro, brilhante, com uma testa fina, mas resistente. (KNUDSON, CHANEY, REYNOSO, 1988; LITTLE, 1983). São liberadas das vagens deiscentes, quando eles ainda estão na árvore (LITTLE, 1964). Quando maduras, as vargens se abrem, mas podem ser coletadas dos ramos, e, em seguida, seco ao ar para separar as sementes (WEBER e STONEY, 1986).

As folhas são alternas, compostas pinadas, 23-33 cm de comprimento, com eixo verde fino com tons avermelhados. As árvores maduras são caracterizadas por um tronco reto de até 30 cm de diâmetro, casca lisa e cinza, irregular, arredondada, com folhagem densa (LITTLE, 1983).

Cassia siamea (Lam.) é utilizada na medicina popular no tratamento de prisão de ventre, malária e doenças associadas à febre e icterícia (AHN et al, 1978.; NSONDE-NTANDOU et al, 2005;. KAUR et al, 2006). As partes aéreas são úteis em micose e doenças relacionadas com a pele por causa da presença de derivados de antraquinona (AHN et al., 1978). Levantamentos etno botânicos sugerem também atividades antinociceptivo e antivirais, das partes aéreas (GBEASSOR et al, 1989., MBATCHI et al, 2006), antioxidante e anti-hipertensivo (KAUR et al., 2006). A atividade laxante (ELUJOBA et al, 1989), sedativa (THONGSAARD et al., 2001, Sukma et al., 2002) e anti-inflamatória do extrato de casca do tronco (ABATAN, 1990, NSONDE NTANDOU et al., 2010) foram também relatadas.



Figura 3: Floração e frutificação (*Senna siamea* Lam)

Fotógrafo: Cirilo Nelson TEFH

Fonte: <http://www.tropicos.org/Image/79053>



Figura 4: Flor - *Senna siamea* Lam

Fotógrafo: Indiana Coronado

Fonte:

<http://www.tropicos.org/Image/100169372>



Figura 5: Inflorescência - *Senna siamea* Lam

Fotógrafo: Indiana Coronado

Fonte: <http://www.tropicos.org/Image/100169373>

3.2. Metabólitos Secundários

Metabolismo é o conjunto de reações bioquímicas que ocorrem continuamente em cada célula. Com isso, os compostos químicos formados, degradados, ou transformados são denominados metabólitos (MACHADO, 2007). Em células vegetais os metabólitos costumam ser dividido em primários e secundários. Os metabólitos primários, por definição, são moléculas que se encontram em todas as células vegetais e são necessários para a vida da planta. São os açúcares, aminoácidos, proteínas e os ácidos nucleicos. Em contrapartida, os secundários, são restritos em sua distribuição, tanto dentro da planta quanto entre diferentes espécies de plantas. São importantes para a sobrevivência e a propagação das plantas que os produzem, são eles: compostos fenólicos, terpenóides, óleos essenciais e alcalóides entre outros. São esses compostos os responsáveis pelos efeitos medicinais, ou tóxicos, das plantas, e eles apresentam grande importância ecológica, uma vez que podem atuar na atração de polinizadores, ou representar uma defesa química contra estresse ambiental (LÓPEZ, 2006; RAVEN et al., 2007).

A origem de todos os metabólitos secundários pode ser resumida a partir do metabolismo da glicose, via dois intermediários principais, o ácido chiquímico e o acetato (MACHADO, 2007). Nas figuras 6, 7 e 8, está esquematizado a rota biossintéticas para produção de Compostos fenólicos, isoprenóides e alcalóides; Derivados do ácido cinâmico e Biossíntese mista: origem dos flavonóides e derivados, respectivamente.

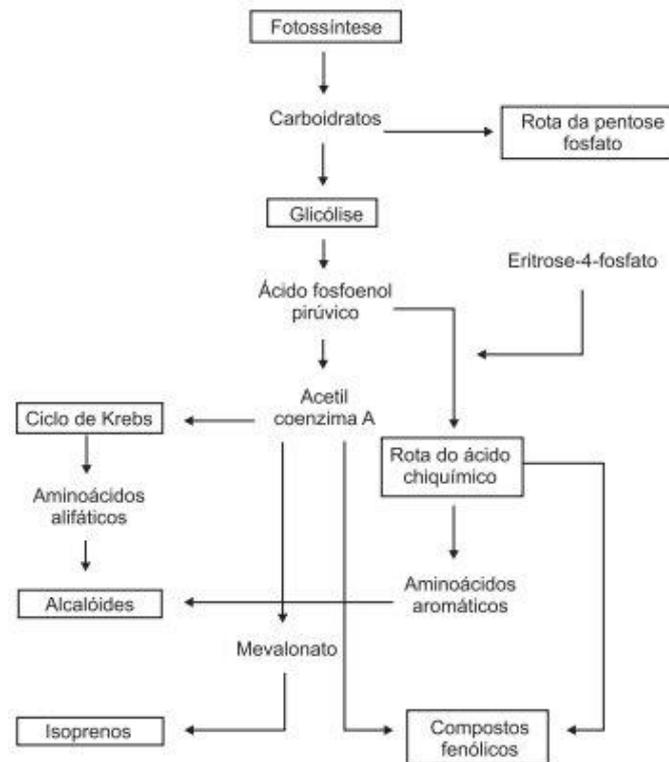


Figura 6. Esquema simplificado das rotas biossintéticas para produção de Compostos fenólicos, isoprenóides e alcalóides. **Fonte:** CASTRO et al. (2001a).

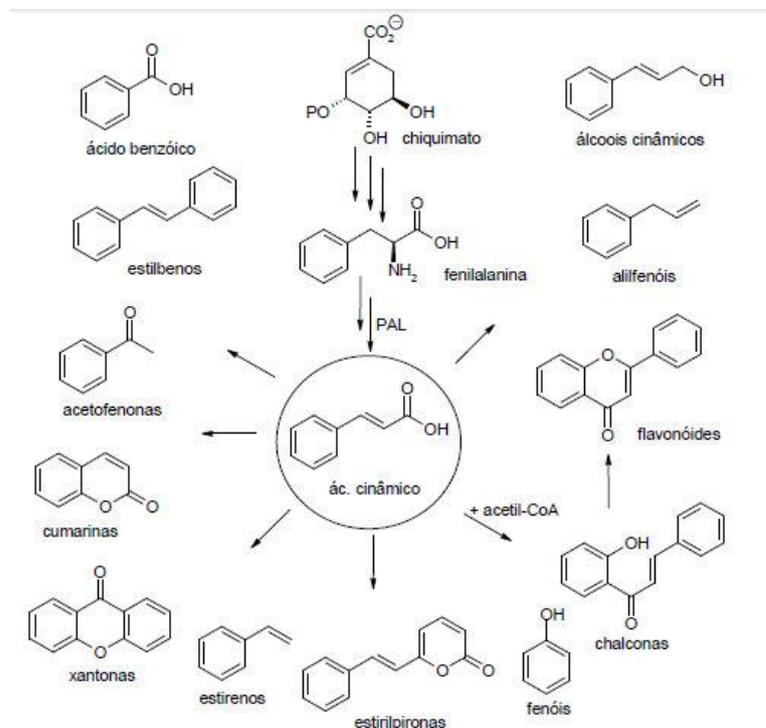


Figura 7. Via metabólica do chicamato: Compostos derivados do ácido cinâmico. **Fonte:** Disciplina de farmacognosia UCFRP/USP (2012)

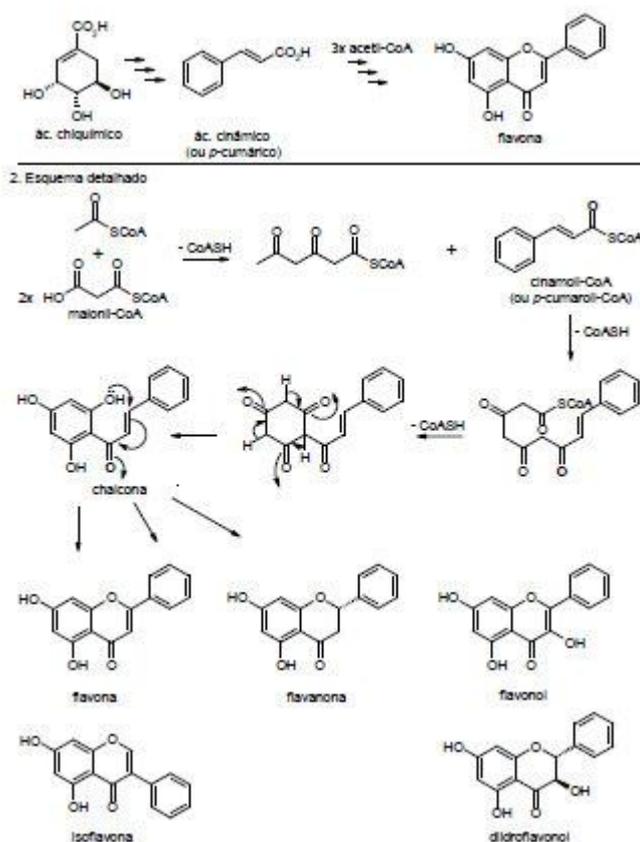


Figura 8. Biossíntese mista (via do chiquimato e via do acetato): origem dos flavonóides e derivados. **Fonte:** Disciplina de farmacognosia UCFRP/USP (2012)

Graças à atividade metabólica secundária dos vegetais superiores, estes produzem substâncias, como mecanismo de defesa, como exemplo pode-se citar a produção de antibióticos, contra microorganismos, insetos e herbívoros (JUNIOR E PINTO, 2005). Assim como, os óleos essenciais e os extratos de diversas espécies de plantas podem controlar o crescimento dos microorganismos relacionados à pele, à cárie dental, incluindo as bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (SARTORATTO et al., 2004).

As plantas que contêm compostos aromáticos são usadas tradicionalmente na medicina popular, na indústria farmacêutica, na indústria alimentícia aumentando a vida útil dos alimentos, mostrando inibição de bactérias, fungos filamentosos e leveduras, na medicina alternativa e na de terapias naturais (SARTORATTO et al., 2004).

Nem sempre os princípios ativos de uma planta são conhecidos, mas mesmo assim ela pode apresentar atividade medicinal satisfatória e ser usada desde que não apresente efeito

tóxico. Existem vários grupos de metabólicos secundários, alguns de maior importância são abordados na Tabela 3.

Tabela 3. Características de alguns metabólitos secundários de plantas medicinais.

PRINCIPIO ATIVO	PROPRIEDADES MEDICINAIS OU TÓXICAS
Alcalóides	Atuam no sistema nervoso central (calmante, sedativo, estimulante, anestésico, analgésico). Alguns podem ser cancerígenos e outros antitumorais.
Mucilagens	Cicatrizante, antiinflamatório, laxativo, expectorante e antiespasmódico.
Flavonóides	Antiinflamatório, fortalece os vasos capilares, antiesclerótico, antiedematoso, dilatador de coronárias, espasmolítico, antihepatotóxico, colerético e antimicrobiano.
Taninos	Adstringentes e antimicrobianos (antidiarréico). Precipitam proteínas.
Óleos essenciais	Bactericida, antivirótico, cicatrizante, analgésico, relaxante, expectorante e antiespasmódico.

Adaptada de Lorenzi & Matos (2002).

3.2.1. Antraquinonas

Segundo (SIMÕES, et al., 2000) quinonas são compostos orgânicos que podem ser considerados como produtos de oxidação de fenóis. As antronas e antranóis são os primeiros derivados antronóides que se formam nas plantas, possui função oxigenada apenas no C-9 e a maioria ocorre na natureza na forma de glicosídeos. As antraquinonas propriamente ditas são mais estáveis e são geralmente formadas a partir de antronas livres por auto-oxidação ou pela ação de enzimas próprias das plantas.

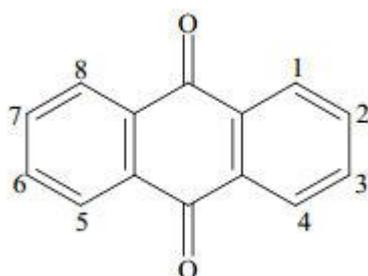


Figura 9. Estrutura química do núcleo fundamental das antraquinonas.

Fonte: <http://www.saber.ac.mz/bitstream/10857/3828/1/Estudo%20Fitoquimico%20de%20Aloe%20marlothii.%20Antonio%20A.%20Tchambule.pdf>

Os derivados antraquinônicos são geralmente compostos alaranjados e solúveis em água quente ou álcool diluído. Podem estar presentes nos fármacos na forma livre ou na forma de glicosídeos. As antraquinonas e antronas são caracterizadas farmacologicamente por sua ação laxativa (em pequenas doses) e purgativa (em maiores doses), propriedades atribuídas à presença de dois grupos hidroxilas nas posições C-1 e C-8 e um grupo substituinte diferenciado em C-3 (Da Fonte, 2005).

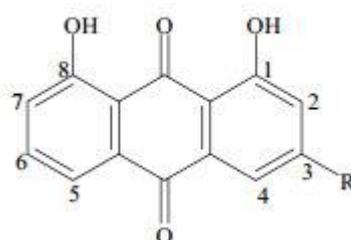


Figura 10. Estrutura química dos antraquinônicos:
Relação estrutura – atividade laxativa/purgativa.

Fonte: <http://www.saber.ac.mz/bitstream/10857/3828/1/Estudo%20Fitoquimico%20de%20Aloe%20marlothii.%20Antonio%20A.%20Tchambule.pdf>

Laxantes deste tipo bloqueiam a reabsorção de sódio através do bloqueio da enzima ATPase dependente de Na^+ / K^+ (efeito anti-reabsortivo). Ao mesmo tempo promove, em diferentes condições, a passagem de eletrólitos e água na luz intestinal. São também empregados terapeuticamente como catárticos, por irritar o intestino grosso, aumentando a mobilidade intestinal e, conseqüentemente, diminuindo a reabsorção de água (IZZO, 1999).

3.2.2. Metabólitos Secundários do gênero *Senna*

O gênero *Senna* tem sido amplamente estudado do ponto de vista químico, e sua descrição fitoquímica permite verificar as potencialidades de estudo de outras de suas espécies como fontes de novas substâncias químicas (DI STASI E HIRUMA-LIMA, 2002).

Foram isolados da *Senna alexandrina*, polissacarídeos (ALAM E GUPTA, 1986), flavonóides (WASSEL E BAGHDADI, 1979) e sennosídeos A e B (Fig 11) em diferentes partes da planta (YASMIN et al., 1986; ISHIDA et al., 1989). O perfil fitoquímico dessa espécie não difere muito da *Senna acutifolia* quanto à presença de aminoácidos, glicosídeos, agliconas de antraquinonas e flavonóides (UPADHYAYA & SINGH, 1989). A fração

polissacarídica foi testada quanto à sua atividade antitumoral contra Sarcoma-180 de camundongos, exibindo uma taxa de 51% de inibição (MUELLER et al., 1989).

S. alata é uma das espécies mais importantes do género *Senna*, que é rico em antraquinonas e polifenóis (PALANICHAMY E NAGARAJAN, 1990; YAGI, et al, 1998). As folhas foram analisadas qualitativamente a presença de antraquinonas (FERNAND, et al, 2008), flavonóides e glicosídeos flavonóides (MORIYAM, et al, 2002).

Segundo Barrese e Hernández, 2002; Ordoñez et al., 2004; Barrese Pérez et al., 2005; Plantamed, 2013, entre os componentes até então identificados em *S. alata*, por diferentes métodos fitoquímicos de prospecção, encontram-se taninos, triterpenos, esteroides, alcaloides, carboidratos redutores, flavonoides, saponinas, cumarinas, antocianidinas, emodina, antraquinona, chrysarabina, ribarina, ácido málico, tartárico, crisofânico e óleo essencial.

Foram isolados da *S. siamea*, alcalóides e triterpenóides (BISWAS E MALLIK, 1986), polissacarídeos (KHARE et al., 1980) e os ácidos palmítico, esteárico, oléico, linoléico, malvático, estercúlico e vernólico (DAULATABAD et al., 1988). B-Sitosterol, lupeol, luteolina, d-pinitol, alcalóides, glicosídeos, flavonóides e uma série de antraquinonas e biantraquinonas (AHN et al, 1978;. SHAFIULLAH et al, 1995.)

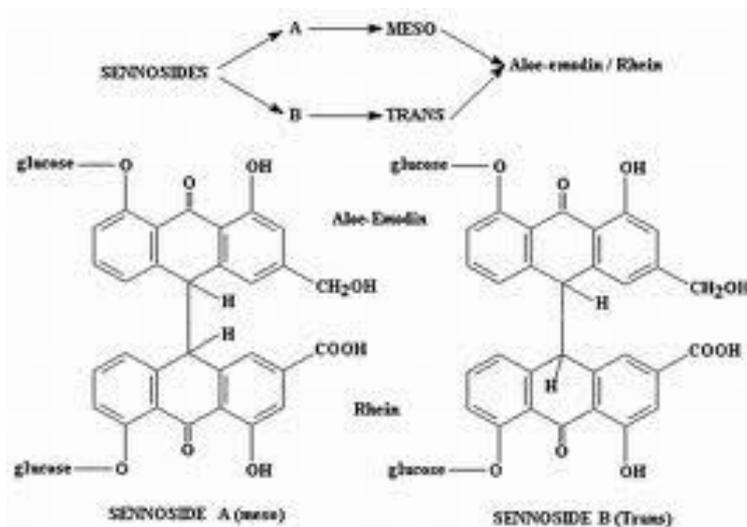


Figura11: Estrutura química dos senosídeos A e B.

3.3 Toxicologia

A toxicidade de uma substância pode ser definida como a capacidade de causar dano grave ou morte a um dado organismo (DRAIZE; WOODARD; CALVERY, 1944). Para que o dano ocorra é necessário, em primeiro lugar, que o organismo seja exposto, em segundo, que este interaja com o agente intoxicante (PEÑA; CARTER; AYALA-FIERRO, 2001). De fato, toda substância pode ser considerada um agente tóxico, esta condição irá depender das condições nas quais ocorrerá a interação do agente químico com o organismo, como tempo e frequência de exposição, dose administrada ou absorvida, e via pela qual se deu a administração (CASTRO, 1993).

No Brasil, as plantas medicinais da flora nativa são consumidas com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes. Comparada com a dos medicamentos usados nos tratamentos convencionais, a toxicidade de plantas medicinais e fitoterápicas pode parecer trivial. Isto, entretanto, não é verdade. A toxicidade de plantas medicinais é um problema sério de saúde pública. Os efeitos adversos dos fitomedicamentos, possíveis adulterações e toxidez, bem como a ação sinérgica (interação com outras drogas) ocorrem comumente (JUNIOR E PINTO, 2005).

O uso milenar de plantas medicinais mostrou, ao longo dos anos, que determinadas plantas apresentam substâncias potencialmente perigosas. Do ponto de vista científico, pesquisas mostraram que muitas delas possuem substâncias potencialmente agressivas e, por esta razão, devem ser utilizadas com cuidado, respeitando seus riscos toxicológicos. Como exemplo de efeito tóxico de substâncias presentes em plantas, pode ser citado o efeito hepatotóxico de apiol e safrol (Fig. 12) (CAPASSO; IZZO; PINTO; BIFULCO; VITOBELLO; MASCOLO; 2000).

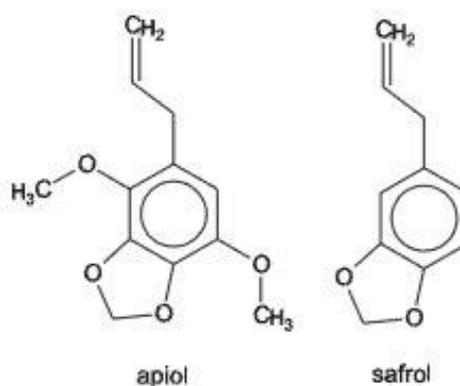


Figura 12: Estrutura Química do apiol e safrol.

Diversas substâncias isoladas de vegetais, consideradas medicinais possuem atividades citotóxicas ou genotóxicas e mostram relação com a incidência de tumores (AMES; 1983). O intenso apelo comercial, advindo do forte movimento cultural dos naturalistas, aqueceu em todo o mundo o consumo de plantas medicinais. Entretanto, não há respeito aos limites de uso dos fitoterápicos, não se fornecem informações sobre efeitos colaterais, e o consumo de plantas, do modo como vem sendo feito, representa cada vez mais um risco para a saúde humana. Estudos multidisciplinares, associando fitoquímica e farmacologia, tornam-se cada vez mais importantes para a definição dos potenciais terapêuticos e tóxicos de extratos vegetais (MACIEL, et al.; 2002).

De acordo com dados do Sistema Nacional de Informações Toxicológicas (SINITOX), no ano de 2010, no Brasil foram registrados 1132 casos de intoxicação humana por uso de plantas, sendo que desses, 05 foram a óbito (SINITOX, 2010).

Os testes toxicológicos são realizados para se ter dados sobre as condições em que as entidades químicas produzem efeitos tóxicos, qual a natureza desses efeitos e quais os níveis seguros de exposição (LOOMIS; HAYES, 1996).

3.3.1 Toxicidade aguda

Toxicidade aguda é definida como os efeitos adversos que ocorrem dentro de um período curto após a administração de uma dose única ou doses múltiplas administradas dentro de um período de 24 horas, tendo como objetivo determinar a sintomatologia em curto prazo após a administração de um composto, bem como o binômio dose-efeito letal, que é estimada por um parâmetro denominado dose letal 50%, mais conhecida como DL₅₀ (BARROS ; DAVINO, 2003). Serve de base ainda para o estabelecimento de um regime de doses para pesquisas sobre a toxicidade subaguda e crônica, além de fornecer subsídios sobre o modo de ação tóxica da substância-teste (BRITO, 1994).

Os ensaios de toxicidade aguda são comumente realizados em camundongos e ratos, embora em certos casos também sejam utilizados animais maiores, como coelhos e cães. Recomenda-se a mesma via de administração utilizada no homem, sendo a via oral a mais comum (KLAASSEN; AMDUR; DOULL, 1996).

3.3.2. Estudos da toxicidade do gênero *Senna*

Senosideos são os principais metabólitos ativos de *Senna* e exibem uma toxicidade muito baixa em ratos (HIETALA et al., 1987). Tem-se observado baixa genotoxicidade, tanto

em linhagens de bactérias, como em células de mamíferos (SANDNES et al, 1992,. MUKHOPADHYAY et al, 1998; HEIDEMANN et al, 1993,. MERETO et al, 1996).

Estado toxicológico e genotóxico do extrato bruto de Senna são considerados diferentes, mediante o grau de pureza do mesmo, no qual em 98% de pureza, a DL 50 é 4100mg/kg, enquanto 5,5% de pureza correspondem a uma DL50 de 384mg/kg (HIETALA et al., 1987). Outros derivados de antraquinonas como hidroxiantraquinonas (emodina, aloemodina, Rhein), que estão presentes em menor quantidade em Senna, têm efeitos toxicológicos e mutagênico, diferenciado, levando a muitas controversas. Emodina e aloemodina apresentaram resultados positivos em ensaios genotóxicos em *Salmonella typhimurium*, e em células V79-HGPRT, hepatócitos e fibroblastos de ratos (WESTENDORF et al., 1990), enquanto que resultou negativa no estudo de Heidemann et al. (1993). Mori et al. (1990) observaram formação de neoplasias no estômago, no intestino e no fígado de ratos antes de 48 dias de exposição à 1% hidroxiantraquinonas na dieta. Além disso, segundo Siegers et al. (1993), especula-se que uso crônico de laxantes antranóides é um fator de risco para desenvolvimento do câncer coloretal. Outros investigadores estão em desacordo com estas observações (SANDNES et al., 1992; HEIDEMANN et al, 1993,. MASCOLO et al, 1999.; MENGS et al., 1999).

O extrato das folhas de *S. alata* apresentou várias atividades farmacológicas, tais como anti-inflamatório, analgésico (PALANICHAMY E NAGARAJAN, 1990), laxantes (OGUNTI E ELUJOBA, 1993), antiplaquetário de agregação (MORIYAMA, et al, 2003), antifúngica (DAMODARAN E VENKATARAMAN, 1994) e antimicrobiana (IBRAHIM E OSMAN, 1995). Apesar das propriedades terapêuticas, deve ser administrada com cuidado, pois é suspeita de ser tóxica aos rins e, ainda, considerada abortiva (LORENZI, 2000; PLANTAMED, 2013).

3.4. Trato Gastrointestinal, Constipação Intestinal e Agentes Laxativos.

O trato gastrointestinal (TGI) é um dos sistemas do organismo de importância fundamental, considerando sua função de prover, o necessário para o organismo; água, eletrólitos e nutrientes (GUYTON e HALL, 2006). As suas funções dependem de propriedades inerentes à musculatura lisa intestinal, reflexos de neurônios intrínsecos no intestino e no sistema nervoso central (SNC) (Fig. 13), efeitos parácrinos de mediadores químicos e hormônios gastrointestinais (GANOG, 2003). Porém, a maioria de suas funções é autônoma e controlada predominantemente pelo sistema nervoso entérico (SNE) (Fig.14)(HOOPERWERF & PASRICHA, 2003).

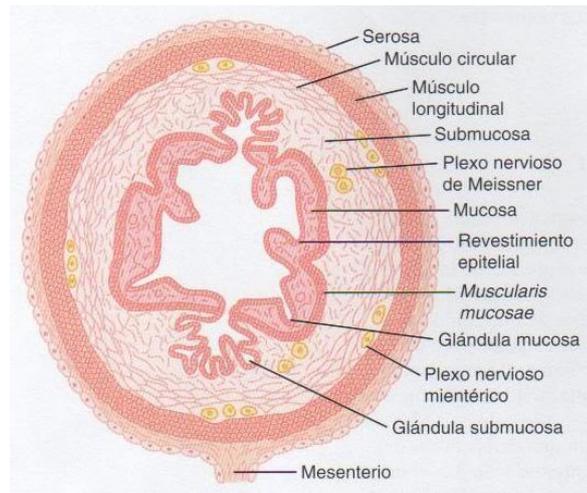


Figura 13: Corte Transversal do Intestino.

Fonte: <http://s988.photobucket.com/user/meddics/slideshow/apuntes%20y%20resumenes/?albumview=slideshow>.

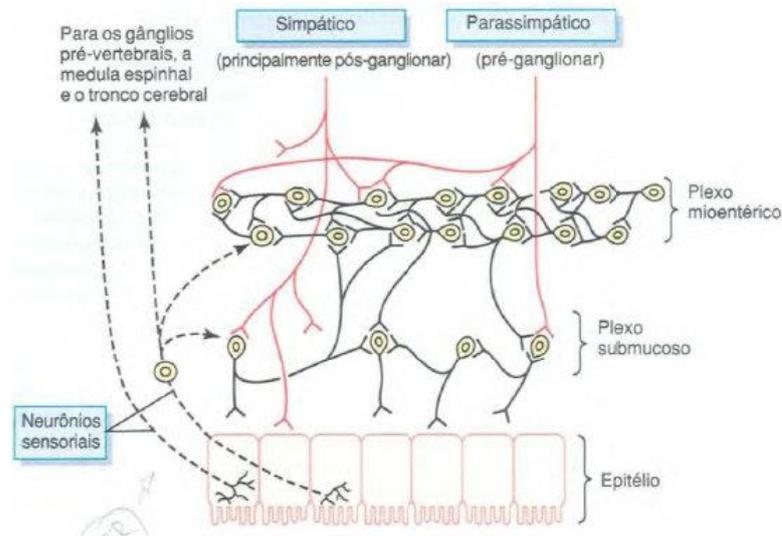


Figura 14: Controle neural da parede intestinal, mostrando (1) os plexos mioentérico e submucoso (fibras pretas); (2) o controle extrínseco desses plexos pelo sistemas nervosos simpático e parassimpático (fibras vermelhas); e (3) fibras sensoriais passando do epitélio luminal e da parede intestinal para os plexos entéricos, depois para os glânglios pré-vertebrais da medula espinhal e diretamente para a medula espinhal e o tronco cerebral (fibras pontilhadas).

Fonte: <http://s988.photobucket.com/user/meddics/slideshow/apuntes%20y%20resumenes/?albumview=slideshow>.

A propulsão dos alimentos ao longo do TGI consiste no processo de defecação. De modo geral, através dos movimentos peristálticos, o bolo fecal chega ao reto provocando uma dilatação das paredes intestinais que por sua vez, estimula as terminações nervosas e conseqüentemente, relaxa o esfíncter anal interno (BABB, 1975). Se nesse momento, o esfíncter externo do ânus estiver relaxado, as fezes serão eliminadas. Caso contrário, as fezes ficam retidas no interior do reto e o reflexo desaparece, retornando após minutos ou horas (MELO et. al., 2003). Sendo o esfíncter externo formado por músculo, o mesmo pode ser controlado voluntariamente (GLASS, 1973; GUYTON e HALL, 2006).

Durante o processo de formação das fezes, cerca de 1.500 mililitros de quimo, passam normalmente para o intestino grosso, por dia. Na metade proximal do cólon se dá a maior parte da absorção de água e eletrólitos do quimo, sobrando menos de 100 mililitros de líquidos para serem excretados nas fezes. Nessa região ocorre praticamente absorção de todos os íons, sendo apenas eliminados pelas fezes, 1-5mEq de íons de sódio e de cloreto. Devido a maior parte da absorção ocorrer nessa região, dá-se o nome de cólon absorptivo. Enquanto o cólon distal tem como função principal o armazenamento das fezes, até o momento propício para excreção, recebendo o nome de cólon de armazenamento (GUYTON e HALL, 2006).

Os mecanismos de absorção da água e dos íons ocorrem de maneiras distintas. A água é absorvida por osmose, conforme osmolaridade do conteúdo intestinal. No entanto, a absorção de sódio é o fator determinante dos níveis de água absorvidas (PIVA et al., 1999; CHARNEY et al., 2002). O sódio é absorvido na forma de cloreto de sódio removido por transporte ativo das células epiteliais, pela $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ e cloreto absorvido por um mecanismo eletricamente neutro, que consiste na sua troca pelo ácido carbônico (TSAI et al. 2004; LIBORIO et al., 2006). Esse mecanismo de absorção é importante, pois a secreção de bicarbonato combate a acidez provocada pelo metabolismo das bactérias intestinais, mantendo assim as condições normais para a flora intestinal. As bactérias intestinais desempenham um papel importante na digestão. Com isso, qualquer alteração nas mesmas pode provocar diarreia (PRASAD et al., 1995; FIELD, 2003).

Qualquer problema no processo fisiológico descrito acima poderá acarretar distúrbios na absorção de água pelo colo. Em quadro clínico que ocorre entrada de água no ceco, superior ao volume normal absorvido pelo cólon (5 litros por dia), acarretará em diarreia. Entretanto, quando ocorre excessiva absorção de água, promoverá formação de fezes ressecadas, viabilizando uma situação que se denomina de constipação (PIVA et al., 1999; SANTOS, 2003).

3.4.1 Constipação Intestinal

Segundo Guyton e Hall (2006), constipação intestinal significa movimento lento das fezes através do intestino grosso. Estando muitas vezes associado a grandes quantidades de fezes ressecadas e endurecidas no cólon descendente, que se acumulam devido à absorção excessiva de líquidos. Diversos fatores podem propiciar a constipação intestinal, dentre elas pode-se citar: Qualquer patologia do intestino que obstrua o movimento do conteúdo intestinal, como tumores; aderências que causem constrição ou úlceras; hábitos intestinais irregulares desenvolvidos durante a vida, de inibição dos reflexos normais de defecação; espasmos em pequenos segmentos do cólon sigmóide.

Apesar de numerosos casos de constipação, ainda há dificuldades de estabelecer o diagnóstico correto. Com isso, são necessários múltiplos exames a fim de determinar as possíveis causas, bem como os padrões fisiopatológicos e o grau de evolução da constipação (BABB, 1975; SANTOS, 2005). Normalmente os casos de constipação são classificados na forma aguda ou crônica. A primeira deve-se a mudanças no hábito alimentar, uso de drogas, redução da atividade física, presença de estado mórbido ou mesmo viagens (MELO et. al., 2003). A constipação crônica é proveniente de problemas funcionais ou orgânicos, tais como, o uso de alimentos constipantes ou anormalidades estruturais do trato gastrointestinal (JOHANSON, 2007; MELO et. al., 2003).

O esforço evacuatório do constipado, seja adulto ou criança, pode causar doenças como hemorróidas e fissuras anais. Ambas exigem a correção do hábito intestinal inadequado, para a sua cura. Além disso, na grande maioria necessitam também intervenção cirúrgica para corrigir a doença instalada, retirando os indivíduos de suas atividades durante o período cirúrgico e da convalescença (CRUZ, 1999; SLEISENGER et. al., 1998).

O estudo da prevalência da constipação e de fatores associados tem grande importância para a qualidade de vida da população, podendo auxiliar na elucidação e prevenção de múltiplos estados patológicos causados por este agravo. A constipação é, portanto, uma doença ou um conjunto de sintomas que consomem grande quantidade de recursos econômicos, públicos ou privados, com implicações sociais dramáticas que atingem principalmente a criança na idade escolar, prejudicando sua inserção social (MORAIS, et. al., 1999), a qual pode ser evitada com atitudes educacionais e preventivas.

3.4.2. Agentes Laxantes

Os fármacos que atuam como laxativos, incluem os purgativos, que aceleram a passagem do alimento através do intestino, e os agentes que aumentam a motilidade no

músculo liso, sem causar purgação. De maneira geral, eles podem atuar pelo aumento da retenção de água devido aos efeitos osmóticos (fibras alimentares, etc), estimulando a secreção intestinal ou até mesmo, atuando diretamente na motilidade intestinal (VAN GORKOM, et al., 1999; RANG et al., 2001). Os agentes laxantes foram classificados em quatro diferentes classes: laxativos osmóticos, formadores de bolo fecal, emolientes fecais e estimulantes. Dentre elas, a mais utilizada é laxante osmóticos, onde estão incluídos os purgativos salinos (sulfato de magnésio e o hidróxido de magnésio), bem como a lactulose (MELO et al., 2003; MACCARA, 1982). Em contrapartida, essa classe pode causar eventos adversos como cólicas, diarreias, flatulência e distúrbios eletrolíticos. Em casos de superdosagens medicamentosas, pode gerar efeitos graves como, bloqueio cardíaco, bloqueio neuromuscular ou depressão do SNC em crianças e em pacientes com deficiência renal, devido ao enorme desequilíbrio eletrolítico (RANG et al., 2001).

Os formadores do bolo fecal são substâncias capazes de reter água na sua estrutura, aumentando o volume fecal, diminuindo sua consistência e facilitando a evacuação (SCHAEFER E CHESKIN, 1998). Além de amolecerem as fezes pela captação de água, estimulam a motilidade pela distensão que provocam na parede do cólon, com o aumento de volume do seu conteúdo. Como se trata de um estímulo fisiológico, podem ser usados mesmo na presença de uma mucosa intestinal inflamada. São próprias para suplementação da dieta pobre em fibras como tratamento coadjuvante da constipação crônica e podem ser usadas por tempo indeterminado (SCHAEFER E CHESKIN, 1998; MÁRQUEZ, 1998). Atuam nas porções distais por serem pouco digeridas no cólon, mantendo o volume líquido até a evacuação. No intestino grosso as fibras são responsáveis pelo aumento do bolo fecal e diminuição da sua consistência; diminuem o tempo de trânsito intestinal e diminuem a pressão no interior do cólon (SCHAEFER e CHESKIN, 1998; MÁRQUEZ, 1998). O início de ação é de 12 a 24 horas. Contraindicações para o uso de agentes incrementadores do bolo fecal são a suspeita de oclusão intestinal, impactação, mudanças de hábito intestinal súbitas de causa desconhecida, dificuldade de deglutição e abdome agudo (SWEENEY, 1997).

As substâncias oleosas, também conhecidas como emolientes fecais, não são digeridas pelas enzimas humanas, com isso, facilitam o deslizamento das fezes. Tem como objetivo a lubrificação das fezes desde que esses agentes são pobremente absorvidos. Entretanto, existe o risco de refluxo do óleo para a árvore respiratória em idosos, e diminuição da absorção de vitaminas lipossolúveis (SWEENEY, 1997). Não são recomendados para uso prolongado. O mais comum é o óleo mineral. O início de ação é de seis a oito horas.

Os compostos laxantes são substância que atuam aumentando a secreção de água e eletrólitos pela mucosa e o peristaltismo, possivelmente através da estimulação dos nervos entéricos (RANG et al. 2001). São recomendados quando os demais grupos de laxantes não solucionam o quadro de constipação (JOHANSON, 2007). Fazem parte desse grupo, os derivados de difenilmetano (fenoftaleína e o bisacodil) e os derivados antraquinônicos (sene, cascara sagrada, aloe vera e ruibarbo) (SANTOS, 2003).

3.4.3. Atividade Laxante do gênero *Senna*

Espécies do gênero *Senna* são muito utilizadas na medicina popular como um potente agente laxativo (VALVERDE, et al., 1999 & AREZZO, 2000). O componente antraquinônico mais conhecido é o sene, que contém basicamente senosídeos, sendo os senosídeos A, B, C e D, os principais compostos responsáveis pelo efeito laxativo. Estes são pró-drogas, não absorvidas pelo intestino delgado, que são degradadas pelas enzimas bacterianas do cólon. O resultado dessa degradação é a produção da substância ativa, as monoantraquinonas (SCHAEFER & CHESKIN, 1998). A renantrona é o metabólito ativo responsável pelo efeito laxante (YAGI et al., 1991) do sene e é liberado no intestino grosso pela flora bacteriana após hidrólise dos glicosídeos. As antronas e diantronas são dez vezes mais ativas que as antraquinonas e constituem as formas realmente ativas das substâncias antracênicas (LEMLI, 1988). Apesar de estimularem a secreção de fluidos das paredes do cólon para o lúmen, não alteram a permeabilidade nem lesam a mucosa. São geralmente usados em tratamento de curta duração ou na abordagem inicial de um paciente com constipação crônica de mais difícil controle (SCHAEFER e CHESKIN, 1998). Vários mecanismos de ação têm sido propostos para explicar o efeito laxativo de antraquinonas, entretanto o mecanismo de ação preciso, ainda não foi claramente elucidado (NOGUEIRA, 2009).

As folhas de dez espécies de *Cassia* da Nigéria foram estudadas quanto às suas propriedades laxantes em ratos albinos machos, utilizando as folhas de *C. alexandrina* como controle positivo. As folhas de *C. podocarpa* apresentaram atividade laxante tão potente como a *C. alexandrina*. Os resultados finais indicaram que tanto *C. alata* quanto *C. podocarpa* apresentaram resultados significativos quanto à atividade laxante (ELUJOBA et al., 1989). O extrato a 10% das folhas de *Senna fastuosa* também apresentou atividade (KRAMBECK et al., 1985).

3.5. Antimicrobianos

O termo quimioterapia antimicrobiana pode ser entendido como a utilização de compostos químicos sintéticos capazes de destruir agentes infecciosos ou inibir o seu crescimento (RANG; DALE; TITTER, 2001). Enquanto a terminologia antibiótico se refere a substâncias produzidas por diversas espécies de micro-organismo (bactérias, fungos, actinocetos) para suprimir o crescimento de outros micro-organismos (NEU, 1997).

O sucesso obtido com o desenvolvimento dos antimicrobianos levou a um período de euforia na medicina, representado pela fase de maior desenvolvimento da indústria farmacêutica (1950-1970). Acreditava-se que a ciência seria capaz de extinguir todas as doenças através do combate aos micro-organismos. Entretanto, essa realidade proporcionou o uso inadequado dos antimicrobianos e conseqüentemente o aparecimento de cepas de bactérias patogênicas resistentes a ação dos mesmos (NASCIMENTO, 2003).

Existem dois tipos de resistência, a natural e a adquirida. Na natural, qualquer indivíduo isolado da espécie, independente de onde foi isolado, apresenta a resistência, isto é, por se tratar de resistência nata, o perfil de resistência é encontrado em espécies isoladas em qualquer local do mundo. Enquanto a resistência adquirida, apenas algumas cepas apresentam ao longo do tempo (TRABULSI; ALTERTHU, 2005).

Embora as indústrias químicas e farmacêuticas tenham produzido uma imensa variedade de diferentes antibióticos nos últimos tempos, cada vez mais tem sido observado o aumento de micro-organismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, incentivando a busca de novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas. Além disso, a alta incidência de infecções, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, aumenta a importância da procura e da descoberta de compostos terapêuticos alternativos (PRASHAR et al., 2003).

As doenças infecciosas representam uma importante causa de morbidade e mortalidade entre humanos, especialmente nos países em desenvolvimento. Assim, as indústrias farmacêuticas têm sido motivadas para o desenvolvimento de novas drogas antimicrobianas nos últimos anos, especialmente em função da ocorrência de resistência microbiana a tais medicamentos (NASCIMENTO et al., 2000), nesses países, o tratamento de tais doenças é difícil não só devido a resistência, mas também por causa da baixa renda da população, que reduz drasticamente a acessibilidade a medicamentos adequados (KUETE et al., 2011).

Uma alternativa terapêutica para o tratamento de micro-organismos resistentes a antibióticos é a utilização de extratos vegetais. Há muitas vantagens no uso de compostos antimicrobianos de plantas medicinais, como menos efeitos colaterais, melhor tolerância do

paciente, mais econômico, melhor aceitação devido à longa história de uso e ser renovável por estar disponível na natureza (GUR et al., 2006; PAREKH & CHANDA, 2007). A investigação quanto à ação antimicrobiana de plantas produz resultados úteis e elas constituem de um potencial terapêutico com ação significativa frente à patógenos humanos, incluindo bactérias, fungos e vírus (SCHUCK et al., 2001).

Na figura 15 estão ilustrados os locais, ou estruturas, da célula bacteriana que são considerados sítios de ação para os componentes de produtos naturais. Geralmente os mecanismos de ação de compostos naturais são desintegração da membrana citoplasmática, desestabilização da força próton motriz (FPM), fluxo de elétrons, transporte ativo e coagulação do conteúdo da célula. Nem todos os mecanismos de ação agem em alvos específicos, podendo alguns sítios serem afetados em consequência de outros mecanismos (BURT, 2004).

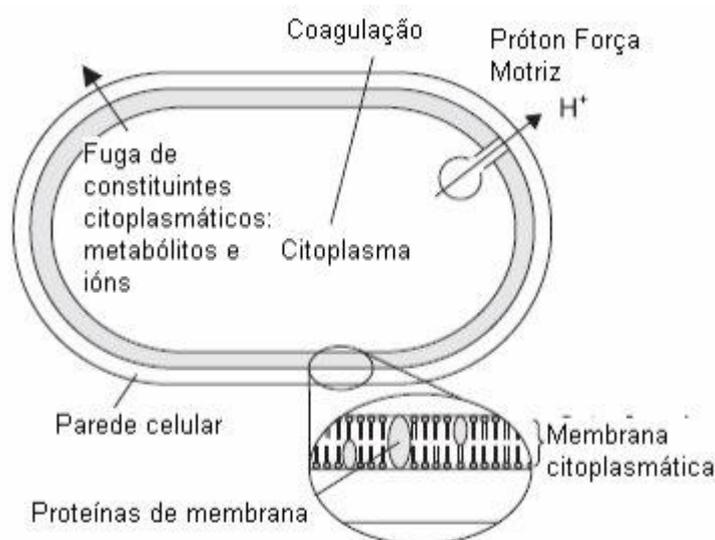


Figura 15: Locais e mecanismos de ação que podem ser sítios para ação de compostos naturais na célula bacteriana (Adaptado de Burt, 2004)

3.5.1. Atividade Antimicrobiana do gênero *Senna*.

Atividade antimicrobiana foi verificada com a utilização de *Senna obtusifolia* (KITANAKA & TAKIDO, 1986), *Senna pudibunda* (CAVALCANTI et al., 1988), *Senna Garrettiana* (INAMORI et al., 1984), *S. alata*, *S. fistula*, *S. frandis*, *S. holosericea*, *S. multijuga*, *S. occidentalis*, *S. purpúrea*, *S. roxburghii*, *S. putibunda*, *S. tora* (VEIGAS et al, 2006).

Para avaliar a atividade antibacteriana de *Senna alata*, Ordoñez et al. (2004) oito micro-organismos foram testados: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*), *P.*

aeruginosa, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*), *Serratia sp.*, *Salmonella typhimurium* e *C. albicans*. O extrato de mata pasto apresentou atividade apenas sobre *S. aureus*. Trabalhos recentes revelaram o potencial dos extratos de *S. alata* na inibição de diversos microrganismos, tanto de bactérias quanto fungos (CHOMNAWANG et al., 2005; OWOYALE et al., 2005). Estudo realizados por Makinde et al., (2007), demonstraram a eficiência de extratos metanólicos de *S. alata* contra fungos de diversas espécies, como: *Microsporum canis*; *Blastomyces dermatitidis*; *Trichophyton mentagrophytes*; *Candida albicans* e *Aspergillus flavus*.

4. Capítulo I

**CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DO EXTRATO
BRUTO METANÓLICO DAS FOLHAS DE *Senna alata* (L.) Roxb e *Senna
siamea* LAM. (FABACEAE)**

1. INTRODUÇÃO

As práticas da medicina tradicional expandiram-se mundialmente no decorrer da última década do século XX e ganharam popularidade. A Organização Mundial de Saúde (OMS) tem estimulado o desenvolvimento de políticas públicas, a fim de inserir os medicamentos fitoterápicos no sistema oficial de saúde de 191 Estados membros. A inclusão do Brasil na discussão dessa política sobre fitoterápicos deve-se ao fato do país possuir não só a maior diversidade genética do mundo, mas também ampla tradição no uso de plantas medicinais, que está intrínseca ao conhecimento popular dos brasileiros (RODRIGUES; SANTOS; AMARAL, 2006).

De acordo com a OMS, plantas medicinais são todas as plantas que contêm em um ou mais de seus órgãos substâncias que podem ser utilizadas com propósitos terapêuticos ou que sejam precursoras de semi-síntese química farmacêutica (BADKE, 2008). Ainda nesse sentido, Morgan (1994), afirma que toda planta que contém um ou mais princípios ativos em sua composição e que são úteis à saúde dos seres humanos, são consideradas plantas medicinais.

Os compostos secundários têm sido alvo de inúmeras investigações, buscando conhecer sua origem, funções e, especialmente, as maneiras como podem ser empregados pelo homem (WALLER; NOWACKI, 1978; WERKER et al. 1994; BRUNETON, 1995; HARBORNE, 1995; SAROYA, 2006; GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Uma vez que diversos povos ao longo da evolução humana na Terra têm utilizado plantas com propósitos medicinais, vários estudos foram conduzidos e correlacionaram a atividade farmacológica aos compostos secundários que produzem (BARBOSA FILHO et al. 2006; BARREIRO et al. 2007; CORRÊA et al. 2008; ARECHE et al. 2009).

A composição química da família Fabaceae é muito peculiar, apresentando os isoflavonoides como os metabólitos característicos e em grande variedade (BRANDI, 1997). As atividades biológicas desses compostos têm sido estudadas, como exemplo tem-se a genisteína, que possui atividade inibitória contra a topoisomerase II e tirosina quinase que inibe a proliferação do câncer (AKIYAMA et al., 1987; WANG et al., 2001). Os isoflavonoides são considerados fitoestrogênios, cujo mecanismo de ação é baseado na inibição dos receptores de estrogênios por ação competitiva com o hormônio. Eles podem reduzir os riscos de alguns cânceres hormônio dependentes, incluindo os de próstata e mama (MERKEN; BEECHER, 2000; VEITCH, 2007).

Espécies do gênero *Senna* revelaram uma grande diversidade de substâncias inéditas e bioativas, com padrões moleculares variados. Foram isolados cerca de 350 metabólitos

secundários em espécies desse gênero, que se encontram amplamente distribuídas em várias partes do mundo. Estudos evidenciaram a ocorrência de substâncias de diversas classes, sendo as antraquinonas, flavonóides e outros compostos fenólicos como os constituintes mais freqüentes na maioria das espécies (VIEGAS et al., 2006).

Uma vez que esse táxon inclui espécies produtoras de metabólitos secundários de interesse, investigações têm sido realizadas. Viegas et al. (2004b), por meio de análises fitoquímicas, verificaram a presença de alcalóides em *S. spectabilis* (DC) H.S. Irwin & Barneby, identificaram a espectralina, um alcalóide piperidínico com preliminar ação anticolinesterásica; e Serrano et al. (2009), foram isolados dois alcalóides piridínicos com essa mesma atividade e um flavonóide (quercetina) em *S. multijuga* subsp. *lindleyana*.

Diante da variedade de compostos bioativos identificados em espécies do gênero *Senna*, o presente trabalho tem como objetivo a caracterização fitoquímica do extrato bruto metanólico (EBM) das folhas de *S. siamea* e *S. alata*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local de Trabalho

O estudo fitoquímico foi realizado no Laboratório de Síntese Química e Produtos Naturais, do Departamento de Antibiótico – Centro de Ciências Biológicas, na Universidade Federal de Pernambuco.

2.2. Material botânico

As folhas de *S. alata* (L) Roxb. e *S. siamea* (Lam.), foram coletadas nos arredores do campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), respectivamente, em março de 2012. As exsicatas foram depositadas no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob números de tombamento **87.186** e **87.187**, respectivamente.

2.3. Preparação dos extratos

O material botânico (folhas) foi seco em estufa a 45°C por 72h, e em seguida pulverizadas. A extração foi realizada por maceração durante sete dias, usando metanol (100g/L). A solução obtida foi concentrada à pressão reduzida em evaporador rotativo (BUCHII-RE) a 40°C.

2.4 Perfil fitoquímico

Utilizando-se placas de Sílica Gel (ALUGRAM® SIL G/UV254, Ref: 818133), alíquotas de 10µL foram submetidas à cromatografia em camada delgada (CCD) para a análise da presença dos principais metabólitos secundários: Polifenóis (flavonóides, derivados cinâmicos, fenilpropanoglicosídeos, proantocianidinas condensadas, leucoantocianidinas e taninos gálicos), Terpenóides (monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, triterpenos e esteróides), Alcalóides e Açúcares Redutores, empregando-se diversas fases móveis e reveladores específicos como descritos na Tabela 01. Para a análise da presença de Saponosídeos foi realizado o teste de afrogenicidade.

2.4.1 Pesquisa de Flavonóides

Cromatografia em camada delgada, usando-se como fase móvel o sistema acetato de etila: ácido fórmico: ácido acético: água (100:11:11:27 v:v), sendo a presença destas classes de metabólitos evidenciada por bandas com fluorescência tenue azulada (derivados cinâmicos) ou de laranja a vermelho (flavonóides) quando revelado com o reagente de NEU e analisada em U.V. O padrão utilizado foi o extrato bruto metanólico de alcachofra.

2.4.2 Pesquisa de Antraquinonas

Bandas de cor amarelo-vermelho, aparecem após a revelação com KOH (hidróxido de potássio), aplicado sobre a cromatoplaça. A Cáscara sagrada foi utilizada como padrão.

2.4.3 Pesquisa de Proantocianidinas condensadas e Leucoantocianidinas

A presença de bandas de coloração vermelha, após revelação com vanilina clorídrica e visualização no visível, foi utilizada como resultado positivo para a presença de taninos. Se a coloração vermelha apresentar-se no ponto de aplicação, é detectada a presença de proantocianidinas condensadas; se houver migração, é evidenciada a presença de leucoantocianidinas.

2.4.4 Pesquisa de Monoterpenóides, Sesquiterpenóides e Diterpenóides

É detectada a presença desses metabólitos quando o cromatograma é revelado com vanilina sulfúrica e posterior aquecimento em estufa a 100 °C por 5 min e surgem bandas de coloração azul escuro, confirmando a presença destes.

2.4.5 Pesquisa de Triterpenóides e Esteróides

Para detectar a presença desses metabólitos, o cromatograma é revelado com o reagente de Liebermann-Burchard com posterior aquecimento em estufa a 100°C por 5 min. O aparecimento de bandas de coloração avermelhada, quando observadas no UV 365 nm, indica a presença de triterpenos e esteróides. São utilizados o padrão de beta-sitosterol, beta-amirina e ácido ursólico.

2.4.6 Pesquisa de Alcalóides

O cromatograma foi revelado com o reagente de Dragendorff, utilizando como padrão a pilocarpina. A presença de bandas de coloração laranja foi usada como critério para acusar a existência de alcalóides.

2.4.7 Pesquisa de Açúcares Redutores

Os padrões xilose, arabinose, rhamnose, glicose e maltose foram empregados para a identificação de açúcares redutores no extrato. O cromatograma é revelado com o cloreto de 2,3,5 trifeniltetrazólio (TTZ), com posterior aquecimento em estufa a 100°C por 5 min. O surgimento de bandas com Rf igual aos padrões, bem como colorações idênticas, é interpretado como resultado positivo à presença desses metabólitos.

2.4.8 Pesquisa de Saponosídeos

O teste consistiu no aquecimento, em placas de Petri, de 12 mL do extrato bruto seco em metanol, para a eliminação do solvente. O produto resultante foi diluído em água destilada e colocado em tubo de ensaio, com posterior agitação manual (30 s) e repouso por aproximadamente duas horas (COSTA, 2001). A observação da consistência e persistência da espuma resultante por mais de 2h foi utilizada como critério para avaliar a presença de saponosídeos.

Tabela 1. Sistemas cromatográficos empregados na prospecção fitoquímica do EBMF de *Senna alata* e *Senna siamea*.

METABÓLITOS	FASE MÓVEL	REVELADOR	REFERÊNCIA
Açúcares Redutores	n-BuOH-Me ₂ CO-TPPO ₄ (40:50:10, v/v)	Cloreto de trifeniltetrazólio	METZ, 1961
Alcalóides	AcOEt-AF-AcOH-H ₂ O (100:11:11:26 v/v)	Dragendorff	WAGNER, 1996
Antraquinonas	AcOEt-MeOH - H ₂ O (100:13,5:10)	Bornstragen	WAGNER, 1986
Cumarinas	Tolueno- AcOEt -AF (6:4:1 v/v)	U.V. 365nm	WAGNER, 1996
Monoterpenóides e Sesquiterpenóides	Benzeno-AcOEt (97:03)	Vanilina Sulfúrica	WAGNER, 1996
Triterpenóides e Esteróides	AcOEt-AF-AcOH-H ₂ O (100:0,5:0,5:0,5)	Lieberman/ Burchard	HARBONE, 1998
Flavonóides	AcOEt-AF-AcOH-H ₂ O (100:11:11:26)	NEU	XAVIER, 1988
Proantocianidinas condensadas e Leucoantocianidinas	AcOEt-AF-AcOH-H ₂ O (100:11:11:26)	Vanilina clorídrica	ROBERTSON, 1957
Saponinas	-	Afrogenicidade	SCHENKEL, GOSMANN, ATHAYDE (2000)

n-BuOH = n-butanol; Me₂CO = acetona; TPPO₄ = tampão fosfato; AcOEt = Acetato de etila; AcOH = ácido acético; H₂O = água; AF = ácido fórmico; MeOH = metanol; ; NEU = ácido etilborilaminoéster a 1% em etanol; UV = ultravioleta; Et₂O-Tolueno; AcOH = Etóxi etano.

2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os compostos químicos do extrato bruto metanólico das folhas (EBMF) *S. alata* e *S. siamea*, estão demonstrados na tabela 2. Foi identificado em ambos os extratos a presença de: Açúcares redutores, Antraquinonas, Cumarinas, Monoterpenos e Sesquiterpenos, Triterpenos e Esteróides e Flavonóides.

Tabela 02: Resultado da Avaliação Fitoquímica do EBMF de *Senna alata* e *Senna siamea*.

Metabólitos Secundários	EBMF (<i>S. alata</i>)	EBMF (<i>S. siamea</i>)
Açúcares Redutores	+	+
Alcalóides	-	-
Antraquinonas	+	+
Cumarinas	+	+
Monoterpenóides e Sesquiterpenóides	+	+
Triterpenóides e Esteróides	+	+
Flavonóides	+	+
Proantocianidinas condensadas e Leucoantocianidinas	-	-
Saponinas	-	-

Legenda: (+) presença do metabólito secundário

(-) ausência do metabólito secundário

Na investigação de saponinas, conforme demonstrado na figura 1, após o segundo e terceiro minuto de análise (*S. siamea* e *S. alata*, respectivamente), não havia formação de espuma persistente e abundante, indicando ausência desse metabólito nos referidos extratos.

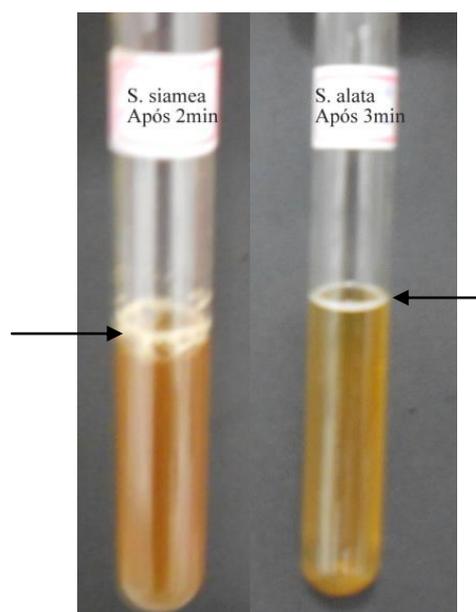


Figura1: Teste de afrogenicidade indicando ausência de saponinas no extrato de *Senna siamea* e *Senna alata*. Setas apontam ausência de espumas abundantes e persistentes.

A figura 2 mostra o aparecimento de bandas de coloração alaranjado e esverdeado indicando presença de flavonóides. As bandas azuis fluorescentes podem ser indicativas de derivados cinâmicos. Como se pode observar a incidência de derivados cinâmicos foi maior no EBMF *S siamea*, quando comparado com EBMF *Senna alata* e EBMF *Senna alexandrina*.

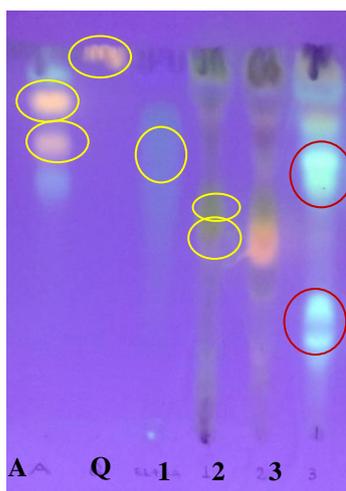


Figura 02: Cromatograma para a identificação de flavonóides. 1- EBMF *Senna alata*; 2- EBMF *Senna alexandrina*; 3- EBMF *S siamea*. A- Alcachofra (padrão); Q – Quercetina (padrão).

Na figura 3, as bandas azuis escuras, evidenciam a presença de compostos monoterpénóides, sesquiterpénóides e diterpénóides. Estando as bandas praticamente na mesma altura, sugere-se que sejam compostos em comum nas três espécies. Na figura 4, foi comprovada a presença de açúcares redutores.

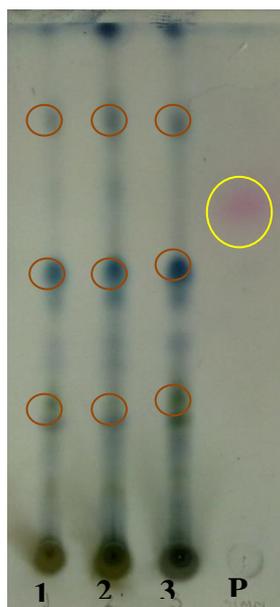


Figura 3: Cromatograma para a identificação de monoterpenóides, sesquiterpenóides e diterpenóides. **1-** EBMF *Senna alata*; **2-** EBMF *Senna alexandrina*; **3-** EBMF *Senna siamea*. **P-** Padrão (Timol)

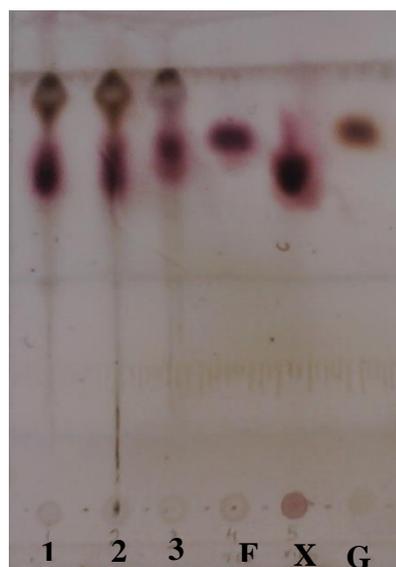


Figura 04: Cromatograma para a identificação de açúcares redutores. **1-** EBMF *Senna alata*; **2-** EBMF *S. alexandrina*; **3-** EBMF *Senna siamea*; padrão **X:** xilose; **F:** frutose; **G:** glicose.

Os resultados da prospecção fitoquímica das espécies *S. siamea* e *S. alata* estudadas corroboram com os descritos por Gupta e Singh (1991) e Alemayehu e Abegaz (1996); Alemayehu et al., 1998; Valencia et al., 2000, os quais relatam que espécies do gênero *Senna* são ricas em flavonoides, antraquinonas, polissacarídeos, esteroides, isoquinolinas, cromonas, lactonas, estilbenos e triterpenos.

Atualmente, cerca de 30 espécies, do gênero *Senna*, vêm sendo estudadas e relatadas como fontes ricas em derivados fenólicos, antracênicos e antraquinônicos, como *Cassia fistula* (AGARKAR; JUDGE, 1999; GUPTA et al., 1984; KUO et al., 2002) e *Senna sophera* (KITANAKA et al., 1989; MALHOTRA; MISRA, 1982).

As propriedades farmacológicas dos flavonóides são amplas. Segundo Marín et. al., (2002), a atividade antioxidante desperta interesse crescente devido à presença desses metabólitos nos alimentos vegetais, o que possibilitaria o uso de dietas ricas com fins terapêuticos ou preventivos.

Destacam-se, dentre outros, os seguintes efeitos dos flavonóides sobre os sistemas biológicos: atividade anticancerígena, atividades antiinflamatória e de efeito vasodilatador; ação antialérgica; atividade contra o desenvolvimento de tumores, anti - hepatotóxica, antiulcerogênica; atuação antiplaquetária, bem como ações antimicrobianas e antivirais (LIN

et al. 1997). Trabalhos realizados por vários autores relatam a presença de flavonóides em espécies do gênero *Senna*. Dentre outros metabólitos, como taninos, triterpenos, esteróides, alcalóides, açúcares redutores, flavonóides, saponinas, cumarinas, antocianidinas, emodina, antraquinona, ribarina, ácido málico, tartárico, crisofânico e óleo essencial (BARRESE PÉREZ; HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, 2002; ORDOÑEZ et al., 2004; BARRESE PÉREZ et al., 2005).

Rodrigues et al., 2009, investigaram os metabólitos da *S. alata*, reforçando os resultados obtidos pelo presente estudo, no qual verificaram que cumarinas, flavonoides e ácidos graxos podem ser encontrados em todas as partes da planta. Entretanto antraquinonas só foram detectadas nas folhas.

Compostos químicos identificados em *S. siamea* estão sendo associados a atividades biológicas, tais como Barakol - propriedades ansiolíticas (THONGSAARD et al., 1996); Flavonóides, compostos fenólicos totais, triterpenos e fitosteróis - antioxidantes, Anti-inflamatório, analgésico (MEHTA et al., 2013; THONGSAARD et al., 2001; FIORINO et al., 1998; INGKANINAN et al., 2000; KOYAMA et al., 2001; SUKMA et al., 2002; DEACHAPUNYA et al., 2005; AJAIYEOBA et al., 2008). Saponinas, antraquinonas e alcalóides foram evidenciados por SMITH, 2009.

Verifica-se, outros compostos secundários, além dos encontrados no presente estudo como: alcalóides, saponinas e taninos, na literatura. Esses resultados podem estar relacionados aos diferentes solventes utilizados na extração e/ou reagentes reveladores distintos, entre outros fatores como, local e mês da coleta.

Quando comparamos os compostos identificados nas duas espécies, nota-se a semelhança fitoquímica entre os mesmos, corroborando assim com os identificados no presente trabalho.

3. CONCLUSÃO

Pelo método de cromatografia em camada delgada (CCD), foi possível identificar compostos fitoquímicos em *S. alata* e *S. siamea*, tais como açúcares redutores, antraquinonas, cumarinas, monoterpenos e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides e flavonóides. Atividades biológicas e farmacológicas estão associadas aos metabólitos secundários das mesmas. Com isso, são necessários novos estudos para ampliar o conhecimento químico dessas espécies, garantindo assim uso seguro e eficaz das mesmas, na terapia.

5. Capítulo II

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE LARVICIDA
(Aedes aegypti) **DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Senna siamea***
LAM. (FABACEAE)

1. INTRODUÇÃO

Senna siamea é uma espécie de planta medicinal e alimentar muito difundida e cultivada no sudeste da Ásia e na África sub-samaritana. É bastante utilizada na terapia popular, no qual a casca do caule é tradicionalmente utilizado como analgésico, anti-inflamação e associados doenças como a febre e icterícia (NSONDE NTANDOU et al., 2010). As folhas foram utilizadas como um laxante suave (SAKULPANICH E GRITSANAPAN, 2009), anti-hipertensivos, antibacteriano (BUKAR et al., 2009) e antifúngico (KUPITAYANANT et al., 2001), as quais são atribuídas à presença de diversas antraquinonas e barakol (THONGSAARD et al., 2001). As flores têm atividade antioxidante (KAUR et al., 2006).

Plantas do gênero *Senna*, *S. kleinii* (BABU et al., 2003), *S. auriculata* (PARI E LATHA, 2002) e *S. glauca* (SALAHUDDIN E JALAPURE, 2010) têm sido relatados por atividade antidiabética. Um número de compostos incluindo barakol, emodina, e- β γ -sitosterol, lupeol, luteolina, d-pinitol, alcalóides chromone, glicosídeos flavonóides, antraquinonas e biantraquinones já foram isolados *S. siamea* (THONGSAARD et al, 2001; LU et al, 2001; ALLI-SMITH, 2009).

Historicamente, os óleos essenciais têm desempenhado papel importante nas mais variadas atividades da humanidade. A utilização de espécies de plantas produtoras de óleos essenciais envolve desde a indústria de perfumes e de alimentos até a medicina popular (SONOWA E KÖNIG, 2001). Informações referentes à possibilidade de utilização de óleos essenciais, de diferentes plantas, como alternativa viável para o controle de insetos estão disponíveis na literatura. Recentes investigações apontam que alguns óleos essenciais não apenas repelem insetos, como também apresentam ação inseticida e fumigante (MIYAZAWA et al., 1997; NGOH et al., 1998; ISMAN, 2000).

Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) é o principal vetor da febre amarela na América Central e do Sul América e na África Ocidental. É também o vetor da dengue hemorrágica, que é endêmica no Sudeste da Ásia, África e América (CICCIA E COUSSIO, 2000) A dengue é considerada uma das maiores preocupações mundiais de saúde pública e estima-se que 1,3 bilhões de pessoas estejam em risco de serem infectadas (WHO, 2004). O desenvolvimento de resistência a inseticidas tem sido relatado em um número de vetores do mosquito em todos os continentes do mundo (SATHANTRIPHOP et al., 2006).

Tendo em vista a grande diversidade de vegetais existentes no Brasil, de um total estimado entre 350 e 550 mil espécies (SANDES E BLASI 2000), estudos a partir de extratos vegetais surgem com a expectativa de se encontrar substâncias com propriedades inseticidas e simultaneamente seletivas para serem usadas em futuras formulações de um produto

comercial. Diversos estudos comprovam a atividade de extratos vegetais contra diferentes espécies de mosquitos (DAHARAM SHAKTU E MENON 1983, CONSOLI et al. 1989, GUIMARÃES et al. 2001) incluindo *A. aegypti* (ANGERILLI 1980, SILVA et al. 2004).

Segundo Govindarajan (2010), Substâncias de extratos de plantas podem ser fontes alternativas de controle de mosquitos vetores. A atividade larvicida contra *A. aegypti* foram identificadas em extratos de plantas das famílias Myrtaceae (CHENG et al., 2009), Piperaceae (MORAIS et al., 2007), Poaceae (FURTADO et al., 2005), Lamiaceae (ARAÚJO et al., 2003), Rutaceae (KIRAN et al., 2006) Verbanaceae (CAVALCANTI et al., 2004), Apiaceae e Zingiberaceae (PITASAWAT et al., 2007), e Meliaceae (MAGALHÃES et al., 2010).

Conforme demonstrado, extratos de *S. siamea* têm sido utilizados para diversas finalidades terapêuticas, entretanto não foi encontrado na literatura relatos sobre o óleo essencial da mesma. Diante disso, tem-se como objetivo a caracterização química desses terpenoides, assim como a avaliação da atividade larvicida contra mosquito *A. aegyptio*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Local de Trabalho

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Ecologia Química, no Centro de Ciências Exatas e da Natureza (CCEN) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.2. Material botânico

As folhas de *S. siamea* (Lam.), foram coletadas no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), em março de 2012. A exsicata foi depositada no Instituto Agrônômico de Pernambuco (IPA), sob números de tombamento **87.187**.

2.3. Extração do óleo essencial

Para obtenção do óleo essencial (OE) foram utilizados cerca de 500 g de folhas frescas, as quais foram trituradas juntamente com 1750mL de água destilada. Posteriormente o material vegetal foi transferido para um balão de fundo redondo de 5L, adicionando-se mais água destilada, perfazendo um volume final de 2500mL. O balão volumétrico foi transferido para uma manta aquecedora (160 °C – 170 °C), acoplada à um aparato de Clevenger modificado e um condensador durante um período de 3h. Em seguida, o óleo foi coletado e tratado com sulfato de sódio anidro para retirada da água remanescente. O óleo obtido foi mantido sob refrigeração (-24 °C) até o uso nos experimentos (AUTRAN et al., 2009).

2.4. Análise por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrômetro de Massa

Os compostos voláteis foram analisados através de cromatografia gasosa/espectrometria de massa (CG/EM) em um sistema quadrupolo Agilent 5975C Series CG/EM (Agilent Technologies, Palo Alto, EUA), equipado com uma coluna apolar DB-5 (Agilent J&W; 60 m x 0.25 mm d.i., 0.25 µm espessura da película). Para a análise, 1µL de uma solução hexânica, foi injetado em modo splitless. Posteriormente injetou-se 1µL em split (1:20) da mistura de padrões de hidrocarbonetos (C9-C34). E finalmente, injetou-se a mistura do óleo essencial e a mistura de padrões de hidrocarbonetos, 1µL (0.2µL de alcanos e 0.8µL de óleo) em splitless. A solução hexânica de hidrocarboneto foi preparada com padrões comerciais Sigma-Aldrich®. A temperatura do CG foi ajustada em 60 °C por 3 min, aumentada em 2,5 °C min⁻¹, até 240 °C e mantida por 10 min. O fluxo de hélio foi mantido em pressão constante de 100 kPa. A interface do EM foi definida em 200 °C e os espectros de massa registrados em 70eV(em modo IE) com uma velocidade de escaneamento de 0.5 scan-s de m/z 20-350. Os compostos foram identificados a partir de comparação de seus espectros de massa e tempos de retenção com aqueles de padrões autênticos disponíveis na biblioteca de referência MassFinfer 4, NIST 08 e WileyRegistryTM9th Edition, integradas ao software Agilent MSD Productivity do Chemstation(Agilent Technologies, Palo Alto, EUA). As áreas dos picos nos cromatogramas foram integradas para obtenção do sinal iônico total e seus valores utilizados para determinar as proporções relativas de cada campo.

A partir da análise dos tempos de retenção dos compostos na amostra do óleo essencial, dos padrões de hidrocarboneto e a combinação do óleo essencial com a mistura de padrões foi calculado o índice de retenção para cada componente do óleo, segundo as equações de VAN DENDOLANDKRATZ (1963) e E. KOVATS (1965), e comparado com dados da literatura (ADAMS, 2009).

- Fórmula usada para determinação do índice de retenção de Kratz

$$IR = 100 . i . \frac{(tr_x - tr_{ha})}{(tr_{hd} - tr_{ha})} + 100 . N$$

Onde:

IR: Índice de retenção de Kratz.

i: Diferença do número de carbonos do hidrocarboneto que elui depois da amostra com o hidrocarboneto que elui antes.

trx: Tempo de retenção do composto

trhA: Tempo de retenção do hidrocarboneto que elui antes da amostra.

trhD: Tempo de retenção do hidrocarboneto que elui depois da amostra.

N: Número de carbonos do hidrocarboneto que elui antes da amostra.

➤ Fórmula usada para determinação do índice de retenção Kováts

$$KI = 100Z + \frac{100[(\log t'RX) - (\log t'RZ)]}{(\log t'RZ + 1) - (\log t'RZ)}$$

Onde:

KI: Índice de retenção Kováts

X: Composto de interesse

Z: Número de átomos de carbono do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente anterior ao tempo de retenção de X

t'RX: Tempo de retenção ajustado de X

t'RZ: Tempo de retenção ajustado de Z

t'RZ +1: Tempo de retenção ajustado do hidrocarboneto com tempo de retenção imediatamente posterior ao tempo de retenção de X

2.5 Criações das larvas

A criação de larvas e mosquitos de *A. aegypti* foi mantida no insetário do Laboratório de Ecologia Química da UFPE, sendo proveniente da cepa RockFeller. O ambiente foi mantido à temperatura constante de 28 °C, umidade relativa de 58% e fotoperíodo de 14D:10N (dia/noite).

2.6. Bioensaio Larvicida

A atividade larvicida do óleo essencial foi avaliada utilizando-se uma adaptação do método recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 1981) segundo Navarro et al., (2003). Para a análise da atividade larvicida, uma solução estoque de 100 ppm foi preparada utilizando-se, 0,005 g do óleo diluído em 0,7 mL de etanol, adicionando-se água destilada até um volume final de 50 mL. As demais concentrações foram preparadas através de diluições feitas a partir da solução estoque com água destilada. Para o bioensaio preliminar foram realizados testes com as concentrações de 100, 50 e 10 ppm. Os testes foram realizados utilizando-se 20 larvas de *A. aegypti*, no terceiro instar do desenvolvimento, separadas em um recipiente contendo a solução do óleo a ser testada. Para cada ensaio, foram realizadas três repetições e um controle negativo contendo apenas água destilada e a mesma quantidade de etanol utilizada no ensaio correspondente. A mortalidade das larvas foi determinada após 48h de incubação a $27 \pm 0,5$ °C. As larvas foram consideradas mortas quando as mesmas não responderam a estímulos ou não subiram a superfície da solução. Os valores das concentrações letais para CL10 e CL50 foram calculados pela análise de Probit usando o StatusPlus 2006 software (AUTRAN ET AL., 2009).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

1.1 Análise do óleo essencial extraído das folhas de *Senna siamea* LAM.

O cromatograma do óleo essencial apresentado na Figura 1 mostra o efeito dos compostos contidos no óleo essencial extraído das folhas de *S. siamea*. Após análise foram evidenciados 24 compostos dos quais, três foram passíveis de identificação (tabela 1).

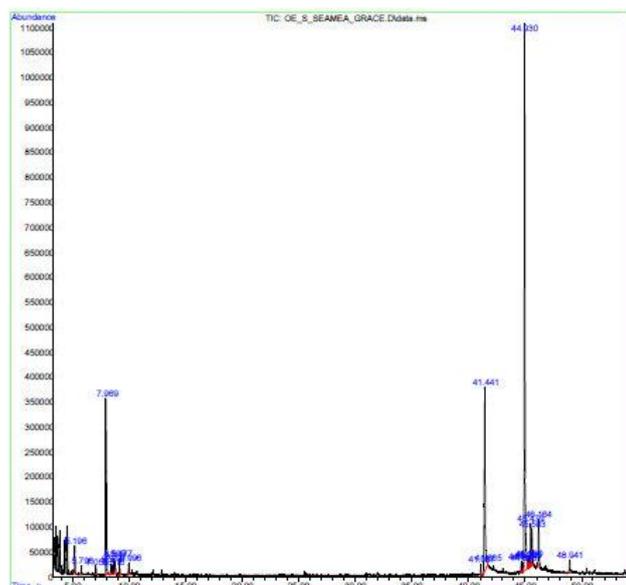


Figura 1: Cromatograma (CG/MS) do óleo essencial das folhas de *S. siamea*.

Para identificação dos compostos os espectros de massas obtidos foram comparados com três bancos de dados: ADAMS.L, ESSENTIALOILS -23P.L, NIST08.L, que retornaram, com índice de similaridade, três possibilidades de compostos para cada substância. Considera-se a base de dados que apresenta maior índice de similaridade. Foram considerados apenas aqueles que apresentam tempo de retenção maior 5 minutos e índice de similaridade igual ou superior a 90.

Tabela 1: Identificação dos constituintes majoritários do óleo essencial obtido de folhas de *Senna siamea* LAM.

Composto	Tempo de Retenção	Índice de Retenção		Proporção no óleo (%)
		Calculado	Literatura	
Ácido n-Hexadecanóico	41,441	1944,63*	1951*	40,90
Fitol	44,931	2113,60*	2114*	31,06
Ácido 9,12,15-octadecatrienóico (Z,Z,Z)	45,478	2138,99 [#]	2143 [#]	4,25

*Índice de Retenção Kratz

Constituintes listados em ordem de eluição numa coluna apolar DB-5; Índices de retenção calculados através dos tempos de retenção em relação aos da série de n-alcenos (C9-C19), em 30 minutos, em uma coluna DB-5; ^c Valores obtidos da biblioteca do National Institute of Standards and Technology (NIST).

[#] Índice de Retenção Kovats

- **Ácido N-Hexadecanóico (C₁₆H₃₂O₂)**

Foi sugerido pelos três bancos de dados, no qual a NIST08.L apresentou três possibilidades com índice de similaridade 93-99. Apresenta pico cromatográfico com tempo de retenção 41,441 minutos, com área normalizada (%A) de 20.08., com índice de similaridade 93 e 99. Os dados apresentados pelo CG/MS são compatíveis com o espectro de massas do Ácido n-Hexadecanóico encontrado na literatura, assim como o índice de Kratz (KONIG, et al., 2006).

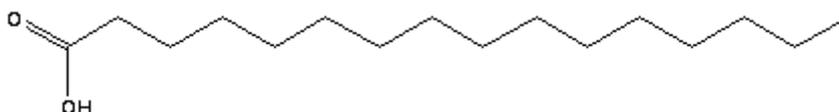


Figura 2: Estrutura do Ácido n-Hexadecanóico (C₁₆H₃₂O₂)

Os principais fragmentos do composto ácido n-Hexadecanóico, substância indicada pelo banco de dados da NIST08.L, são observados no espectro de massas na Figura 3, O íon molecular do ácido n-Hexadecanóico (C₁₆H₃₂O₂) é identificado no pico (M/Z 256.1), e as fragmentações majoritárias estão apresentadas a seguir: (M/Z 43) H₃C – HC⁺ – CH₃, (M/Z 60) H₃C=CO₂H e o pico base (M/Z73) H₃C-HC⁺-CO₂H. A presença desses picos reforça a possibilidade do composto identificado ser o ácido n-Hexadecanóico.

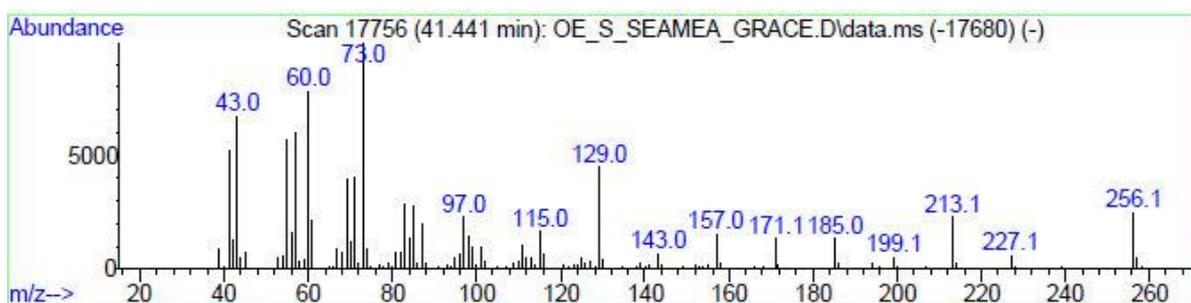


Figura 3: Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 41,441 min no cromatograma apresentado na fig. 1.

O ácido n-Hexadecanóico é conhecido comercialmente como ácido palmítico, apresenta-se como sólido branco, com densidade 0,855g cm⁻³, ponto de fusão de 62°C e ponto de ebulição de 215°C. É insolúvel em água e pouco solúvel em etanol e acetona gelada, mas altamente solúvel em álcool, acetona e clorofórmio aquecido (SALES, 2006).

Atividades como antioxidantes, anti-inflamatória, hipocolesterolêmica, nematocida, pesticida, lubrificante, inibidor 5-alfa redutase, tem sido associado ao ácido n-Hexadecanóico (KALA, et al. 2011; RAJESWARI, et al 2012). Algumas dessas atividades são relatadas em espécie, cujo metabólito foi encontrado, *Celosia argentea*, *Celosia cristata*, *Celosia plumosa* e *Celosia whitei* (PRAKASH et al., 1992, *Casuarina glauca* (DIXIT E TIWARI, 1990), assim como em espécies do gênero *Senna*, *S. occidentalis* (PLANTAMED, 2013), extrato de *S. siamea* (DAULATABAD et al., 1988),

- **Fitol (C₂₀H₄₀O)**

Para o composto com tempo de retenção 44.931 minutos, com área normalizada (%A) de 47.04, três possibilidades foram apresentadas pelo banco de dados da NIST, indicando que o composto pode ser fitol Figura 4. O composto foi confirmado mediante comparação, com dados da literatura do índice do Kratz e espectro de massa (KONIG, et al., 2006). Figura 5.

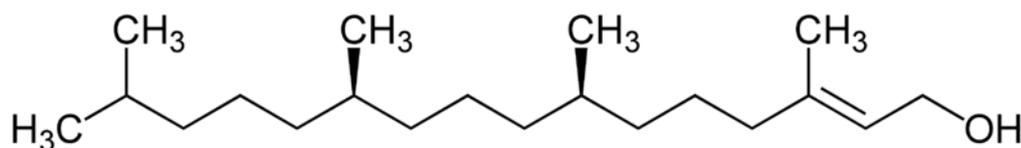


Figura 4: Estrutura do Fitol (C₂₀H₄₀O)

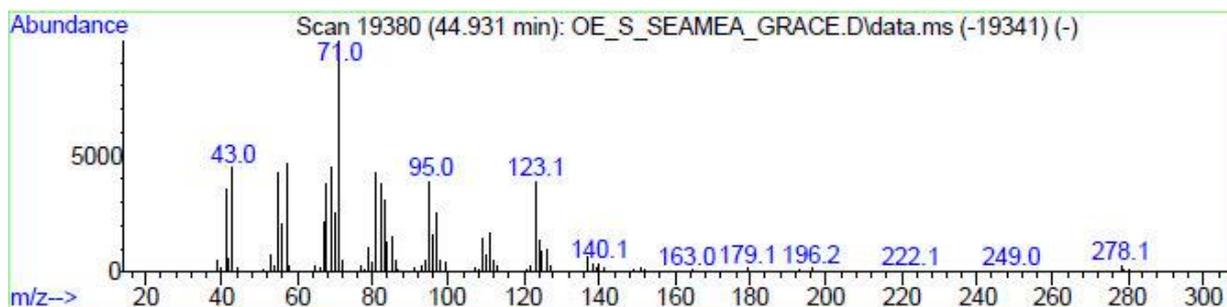


Figura 5: Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 44.931min no cromatograma apresentado na fig. 1.

Nas fragmentações majoritárias tem-se o pico base (m/z 71), que corresponde ao íon $C_4OH_7^+$, a formação desse íon pode resultar da ruptura da ligação entre os carbonos C-3 e C-4 vizinho ao átomo de oxigênio. O pico (M/Z 43) corresponde ao íon $C_3H_7^+$.

O fitol, (3,7,11,15-tetrametilhexadec-2-en-1-ol), é um diterpeno pertencente ao grupo dos álcoois acíclicos insaturados de cadeia longa e ramificada. É um componente da molécula da clorofila, presente em folhas verdes de várias plantas medicinais (COSTA, et al 2012). Encontra-se no estado líquido à temperatura ambiente, com densidade de 0.8533 g/cm³ e ponto de ebulição de 202 °C. A solubilidade aquosa do fitol foi determinada em aproximadamente de 0.00327 mg/l. É usado na indústria como componente de cosméticos, shampoo, sabonetes, detergentes, entre outros (MCGINTY et al., 2010).

Sob o ponto de vista terapêutico, o fitol e seus análogos demonstraram atividade contra micobactérias e no tratamento da tuberculose. Outros estudos demonstram que o fitol é capaz de induzir a expressão de genes-alvo envolvidos em anormalidades lipídicas em várias doenças comuns, incluindo a obesidade, diabetes e as dislipidemias (GOTO et al., 2005; SAIKIA et al., 2010). Apresentou atividade analgésica, anticonvulsivante e em doses agudas não apresentou efeitos tóxicos (COSTA, et al 2012). Mostrou-se eficaz em diferentes fases da artrite, agindo como protetora da cartilagem articular, constituindo uma nova classe promissora para o tratamento de artrite reumática e possivelmente outras inflamações crônicas (LEITE, 2010).

- **Ácido 9,12,15-Octadecatrienóico ($C_{18}H_{30}O_2$)**

O terceiro composto a ser identificado apresentou tempo de retenção 45.478 minutos, com área normalizada (%A) de 4.25. O banco de dados da NIST sugeriu o composto Ácido 9,12,15-Octadecatrienóico (Figura 6), com índice de similaridade acima de 90. O composto foi confirmado pelo índice de Kovats e comparação de espectro (ASUMING, et al 2000).

Os principais fragmentos do composto ácido 9,12,15-Octadecatrienóico, substância indicada pelo banco de dados da NIST08. L, são observados no espectro de massas na Figura 7, O íon molecular do ácido 9,12,15-Octadecatrienóico ($C_{18}H_{30}O_2$) é identificado no pico (M/Z 278.1).

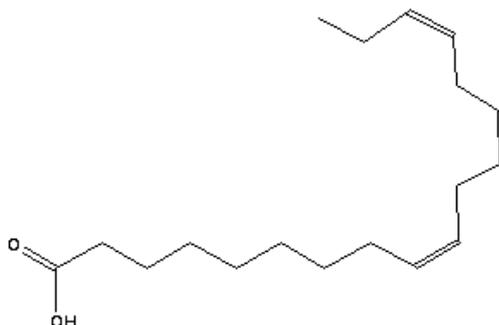


Figura 6: Estrutura do Ácido 9,12,15-Octadecatrienóico ($C_{18}H_{30}O_2$)

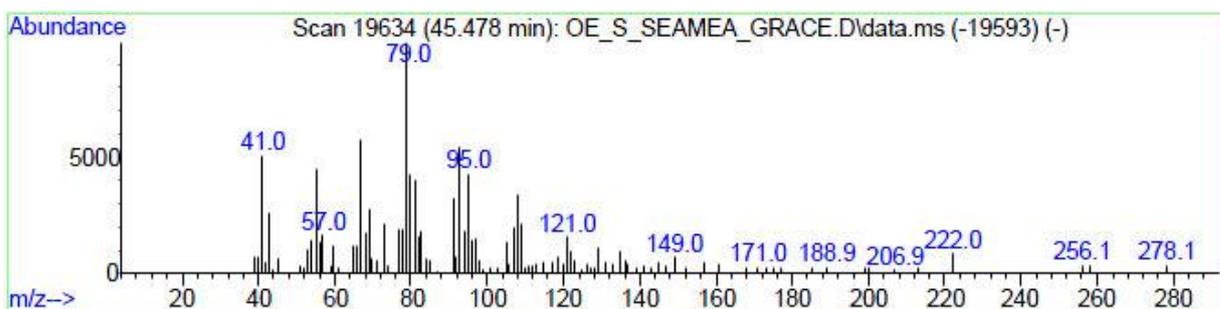


Figura 7: Fragmentos observados no espectro de massas para o tempo de retenção = 45.478 min no cromatograma apresentado na fig. 1.

Ácido 9,12,15-Octadecatrienóico, também conhecido por ácido alfa-linolênico (AAL, $18n-3$) é um ácido graxo poli-insaturado, essencial, pertencente à família $\omega-3$, ocorrendo em uma proporção elevada no óleo de linhaça. O AAL é o precursor dos ácidos eicosapentaenóico ($20:5n-3$) e docosaexaenóico ($20:6n-3$), que estão associados à prevenção de doenças cardiovasculares são necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos (MARTIN et al, 2006).

3.2 Bioensaio Larvicida

O controle do mosquito na fase larvária, utilizando compostos químicos de várias partes da planta: frutos, folhas, flores e raízes, é uma técnica barata, fácil e favorável ao meio ambiente.

Dados da atividade larvicida do OE das folhas de *S. siamea* contra larvas de *A. aegypti* estão apresentados na Tabela 1. Após análise de 24h e 48h, não foi evidenciado morte das larvas, nas concentrações testadas (100ppm, 50ppm e 10ppm), com isso evidencia-se que o OE das folhas de *S. siamea*, nas condições apresentadas, não teve eficácia larvicida contra o *A. aegypti*. Estudo realizado por Pavananundt, et al. 2013, evidenciou atividade larvicida do extrato aquoso das folhas de *S. siamea*. Essa diferença pode ser proveniente dos metabólitos secundários, assim como as concentrações dos mesmos, no extrato aquoso e óleo essencial.

Tabela 2. Eficiência do óleo essencial das folhas de *S. siamea*, sobre a mortalidade das larvas (*Aedes aegypti*.) n = 20.

Tempo de exposição (h)	Taxa de mortalidade (%)			
	100ppm	50ppm	10ppm	Controle
24	0	0	0	0
48	0	0	0	0

*Concentração em partes por milhão (ppm)

Em trabalho de revisão Garcez, et al. 2013, relatou que substâncias de origem vegetal com potencial larvicida contra *A. aegypti*, foram identificadas na família Fabaceae.

Dos compostos fitoquímicos com potencial larvicida, têm-se as amidas, lactonas, flavonoides e rotenoides (SILVA, et al 2011). Dentre os terpenoides, foram encontrados na literatura relatos de compostos bioativos pertencentes às classes dos mono-, sesqui-, di-, tri- e tetranortritepenos (JANG, et al 2005).

4. CONCLUSÃO

Após CG/MS do óleo essencial da *S. siamea* foi possível elucidar os três compostos majoritários: ácido n-Hexadecanóico (20.08%), Fitol (47.04%) e o ácido 9,12,15-Octadecatrienóico (4.25%). O OE *S. siamea*, Quando submetido ao bioensaio larvicida, não apresentou atividade.

Devido à falta de relatos na literatura, sobre o OE de *S. siamea*, novos estudos são necessários para conhecimento dos metabólitos secundários que o compõe, assim como o potencial terapêutico dos mesmos.

6. Capítulo III

**ATIVIDADE ANTIBACTERIANA, HEMOLÍTICA E CITOTÓXICA DO
EXTRATO METANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE *Senna alata* (L.) Roxb e
Senna siamea LAM. (FABACEAE)**

1. INTRODUÇÃO

Um dos maiores problemas de Saúde Pública, enfrentados nas últimas décadas foi o agravamento da resistência a antimicrobianos em populações bacterianas, principalmente de origem hospitalar (Fidler, 1998; Huovinen; Cars, 1998; Okeke et al., 1999; Oliveira et al., 2006a,b). Atualmente, registra-se um aumento significativo na frequência do isolamento de bactérias que eram reconhecidamente sensíveis às drogas de rotina usadas na clínica, mas que se apresentam agora resistentes a todos ou quase todos os fármacos disponíveis no mercado, como ocorre com várias bactérias multirresistentes (Huycke et al., 1998; Rattan et al., 1998; Piddock et al., 1998; Pittet, 2002; Shiomori et al., 2002; Sakagami; Kajamura, 2006).

Atualmente, o problema da resistência tornou-se mais grave devido às dificuldades para a descoberta e o lançamento de novos antimicrobianos no mercado com o uso da metodologia tradicional de triagens, a partir de fungos e bactérias, o que vem tornando esses produtos cada vez mais escassos e caros (Phelps, 1989).

Na busca de novos antimicrobianos devemos enfatizar aqueles de origem vegetal, uma vez que o Brasil apresenta a maior biodiversidade do planeta e que muitas plantas já vêm sendo vastamente usadas e testadas há centenas de anos com as mais diversas finalidades por populações do mundo inteiro. (Stangarlin et al., 1999; Funari; Ferro 2005).

A desinformação e o uso indiscriminado de plantas medicinais podem gerar efeitos tóxicos que comprometem a saúde dos usuários. Devido ao controle cada vez maior e rigoroso em relação à experimentação com modelos biológicos, a necessidade de desenvolver e padronizar testes *in vitro* que detectem os mais diversos níveis de toxicidade de diferentes produtos para uso em seres humanos e animais é grande. Os métodos de análise citotóxica *in vitro* apresentam vantagens em relação aos *in vivo* tais como a limitação do número de variáveis experimentais e a obtenção de dados significativos de forma mais fácil e rápida (ROGERO et al., 2003). Assim, os ensaios de citotoxicidade *in vitro* tornam-se necessários na definição da toxicidade de extratos vegetais em cultivo celular, indicando a habilidade intrínseca desses compostos em ocasionar morte celular como consequência aos danos gerados às funções celulares. Para isso, diferentes parâmetros visando à identificação da proliferação e da morte celular podem ser empregados nos ensaios, avaliando-se colorimetria e absorvância por meio da incorporação de determinadas substâncias no cultivo (WEYERMANN; LOCHMANN; ZIMMER, 2005).

O teste de citotoxicidade *in vitro* em cultura de células tumorais tem se tornado importante para a avaliação de agentes anticâncer, sendo também muito utilizado como método alternativo aos testes farmacológicos em órgãos isolados, e tem, pelo menos durante a

fase de *screening* para avaliação de agentes anticânceres, reduzindo a experimentação *in vivo* em animais (HAMBURGUER; HOSTETTMANN, 1991; CINGI et al., 1991).

A busca por alternativas terapêuticas, a partir de material botânico tem aumentado nos últimos anos, especialmente quando se trata de compostos com atividade antimicrobiana.

Dadas as atividades farmacológicas exibidas pelo gênero *Senna*, algumas espécies se tornaram alvo de estudo, como é o caso de *Senna alata* (L.) Roxb e *Senna siamea* (Lam). O extrato da primeira apresentou várias atividades, tais como a agregação antiplaquetária (Moriyama, et al, 2003), antifúngica (Damodaran e Venkataraman, 1994) e antimicrobiana (Ibrahim e Osman, 1995). Enquanto o da segunda é utilizado na medicina popular no tratamento da constipação, malária e doenças associadas à febre e à icterícia (Ahn et al., 1978; Nsonde-Ntandou et al, 2005. Algumas espécies de *Senna* são usadas pela população das regiões da Índia, Ásia e África, como laxantes e purgativos, entre os quais destacam *Senna auriculata*, *Senna occidentalis*, *Senna obtusifolia*, *Senna tora*, *Senna alata*, *Senna angustifolia*, *Senna autifolia*, *Senna nodosa*, *Senna sophera*, *Senna torosa*, *Senna nigrigans* e *Senna canela*, *Senna fistula*. Estudos farmacológicos com algumas dessas espécies também demonstraram propriedades antibacterianas (Samy e Ignacimuthu, 2003), antifúngicos (Samy e Ignacimuthu, 2003) e hepatoprotetores (Jafri et al., 1999) que demonstram o potencial deste gênero.

Dada a necessidade de inclusão de novos compostos na terapia medicamentosa e diversas atividades farmacológicas do gênero *Senna*, já relatadas na literatura, este estudo tem como objetivo avaliar as atividades antimicrobiana, hemolítica e citotóxica do extrato metanólico bruto da folha (EMBF) da *S. siamea* (Lam) e *S Alata* (L.) Roxb.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material botânico e Preparação dos extratos

As folhas de *S. alata* (L) Roxb. e *S. siamea* (Lam.), foram coletadas no Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), respectivamente, em março de 2012.

As exsiccatas foram depositadas no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob números de tombamento **87.186** e **87.187**, respectivamente.

A secagem das folhas foi realizada em estufa a 45°C por 72h, e em seguida pulverizadas. A extração de componentes foi obtida por maceração durante sete dias, usando metanol

(100g/L) como solvente. A solução resultante foi concentrada à pressão reduzida em evaporador rotativo (BUCHII-RE) a 40°C.

3.2 Atividade antibacteriana

3.2.1 Cepas bacterianas

Para a análise, foram testados isolados clínicos da coleção do Laboratório de Análise Microbiológica (LAM / UFPE): *Staphylococcus aureus* - ATCC 6538 (AM103), *Staphylococcus saprophyticus* - secreção isolada LACEN (AM245), *Staphylococcus aureus* (AM 1210), *Staphylococcus aureus* - (AM 1275), *Bacillus subtilis* - ATCC 6633 (AM04), *Salmonella* - ATCC 35287 (1046), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 14502 (206 AM), *Enterococcus faecalis* - ATCC 51299 (AM1056), *Klebsiella pneumoniae* - secreção (AM410), *Escherichia coli* - ATCC 35218 (AM1050) e *Staphylococcus epidermidis* isolados a partir de esperma (AM235).

3.2.2 Ensaio antibacteriano utilizando o método de difusão em ágar (poço)

Para determinar a atividade antibacteriana dos extratos, foi escolhido o método de difusão em ágar, utilizando a técnica do poço (CLSI, 2009a), já que este método apresenta melhor desempenho, inibição de um maior número de espécies de bactérias (Alves et al., 2008). O semeio dos inoculados (10^8 UFC / ml) foram realizados com swabs de algodão estéril na superfície da placa de petri contendo 20 ml de ágar Mueller-Hinton, procedendo subsequentemente à perfuração asséptica dos poços com um dispositivo contendo cilindro metálico esterelizado de 6,0 mm de diâmetro. A seguir, os poços foram completamente preenchidos com 100 µl do extrato metanólico bruto (EMB) das folhas de *S. alata* (L) Roxb. e *S. siamea* (Lam), dissolvido em dimetilsulfóxido (DMSO) a 50 e 100 mg / ml (5 e 10 mg / poço, respectivamente) (Sakagami et al., 1998). Como controle positivo utilizou-se 100 µl de tetraciclina a 0,3 mg / ml (300 µg / poço) e como controle negativo utilizou-se 100 µl de DMSO (20%, v / v). As placas foram pré-incubadas durante 3 h à temperatura ambiente, permitindo a difusão completa dos extratos (Möller, 1966). Em seguida, as placas foram incubadas aerobicamente a 37 ± 1 ° C durante 24 h e a atividade antibacteriana foi avaliada por medição das zonas de inibição.

3.2.3 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CMI)

A avaliação da concentração inibitória mínima (CMI) foi determinada pelo método de microdiluição em caldo, seguindo as recomendações estabelecidas pela CLSI (2009b). Utilizando microplaca estéril de 96 poços (com fundo em U), cada poço recebeu 90 µl de caldo Mueller-Hinton, 10 µl de inóculo correspondendo a 0,5 na escala de McFarland (10^6 UFC / ml) e 10 µl das soluções de diferentes concentrações dos extratos (0,49 a 1000 µg / ml). Os controles utilizados foram os seguintes: (1) 90 µl de caldo Muller-Hinton e 10 µl de inóculo (controle de crescimento microbiano); (2) 90 µl de caldo Muller-Hinton (controle da esterilidade); (3) soluções de tetraciclina a concentrações de 0,016 a 32 µg / ml (controle positivo); (4) 90 µl de meio de cultura líquido caldo Mueller-Hinton, 10 µl de inóculo a escala de 0,5 McFarland e 10 µl de DMSO (20%, v / v) (controle negativo). As microplacas foram incubadas à 37 ± 1 ° C durante 24 h, e depois adicionou-se 10 µl de cloreto de 2, 3, 5-trifeniltetrazólio (0,1 mg / ml, p / v) como revelador. Este teste foi realizado em triplicata.

3.3 Ensaio Hemolítico

O teste foi realizado em placas de 96 poços seguindo o método descrito por Costa-Lotufo et al. (2002). Cada poço recebeu 100 µl de solução de NaCl 0,85% contendo CaCl₂ 10 mM. O primeiro poço foi o controle negativo que continha apenas o veículo DMSO a 10% e, no segundo poço, foram adicionados 100 µl de substância de ensaio que foi diluída ao meio. Os extratos foram testados em concentrações que variam de 10 a 2500 µg / ml. A diluição em série continuou até o poço 11. O último poço recebeu 20 µl de 0,1% de Triton X-100 (em soro fisiológico a 0,85%) para obter 100% de hemólise (controle positivo). Em seguida, cada poço recebeu 100 µl de uma suspensão a 2% de eritrócitos de camudongo em soro fisiológico a 0,85% contendo CaCl₂ 10 mM. Após incubação à temperatura ambiente durante 30 min e centrifugação, o sobrenadante foi removido e a hemoglobina libertada foi medida espectroscopicamente com absorvância a 540 nm.

3.4 Atividade Citotóxica

A atividade citotóxica foi realizada através do método do MTT brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (ALLEY et al., 1988; MOSMANN, 1983).

As linhagens de células tumorais humanas utilizadas foram NCI-H292 (carcinoma mucoepidermoide de pulmão humano), MCF-7 (adenocarcinoma de mama humana) e Hep-2 (carcinoma de laringe humana) mantidas em meio de cultura DMEM e HL-60 (leucemia promielocítica aguda) mantidas em meio de cultura RPMI. Os meios foram suplementados

com 10% de soro fetal bovino e 1% de solução de antibiótico (penicilina e estreptomicina). As células foram mantidas em estufa a 37 °C em atmosfera úmida enriquecida com 5 % de CO₂.

As células NCI-H292, HT-29 e Hep-2 (10⁵ células/mL) e HL-60(0,3 x 10⁶ células/mL) foram plaqueadas em placas de 96 poços e incubadas por 24 h. Em seguida as amostras dissolvidas em DMSO (1 %) foram adicionadas aos poços em concentração final de 25 µg/mL. O fármaco doxorrubicina (5 µg/mL) foi utilizado como padrão. Após 72 h de reincubação foi adicionado 25 µL de MTT (5 mg/mL) e depois de 3 h de incubação, o meio de cultura com o MTT foram aspirados, e 100 µL de DMSO foi adicionado a cada poço. A absorbância foi medida em um leitor de microplacas no comprimento de onda de 540 nm.

Os experimentos foram realizados em quadruplicatas e a percentagem de inibição foi calculada no programa GraphPadPrism 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi avaliada por medição das zonas de inibição de acordo com os parâmetros sugeridos por Ahmed et al. (2000): zonas de inibição <9 mm (inativas), 9-12 mm (menos ativas), 13-18 mm (ativas), > 18 mm (muito ativas).

Conforme demonstrado na Tabela 1, o EMBF de *S. siamea*, não foi eficaz contra as cepas utilizadas no estudo. No entanto, o EMBF de *S. alata* mostrou atividade antimicrobiana, sendo menos ativa (12 mm) contra *S. aureus* (AM103) e ativa (14 mm) contra *B. subtilis* (AM04) a uma concentração de 50 mg / ml. Na concentração de 100 mg / ml mostrou-se ativa contra *B. subtilis* (AM04) (18 mm), *S. aureus* (AM103) (14 mm), *S. aureus* (AM1272) (15 mm) e *S. aureus* (AM1210) (15 mm).

Na concentração de 100 mg / ml, o EMBF de *S. alata* apresentou um halo de inibição maior que a tetraciclina, para as cepas *S. aureus* (AM1272) (15 mm) e *S. aureus* (AM1210) (15 mm).

Tabela 1: Atividade antimicrobiana do extrato metanólico bruto das folhas (EMBF) de *S. alata* (L.) Roxb e *S. siamea* (Lam).

Linhagens Bacterianas	Controle	Controle	<i>S. alata</i> (mg/ml)		<i>S. siamea</i> (mg/ml)	
	Negativo	Positivo				
	DMSO 20%	TTR 30µg/100µl	50	100	50	100
<i>Bacillus subtilis</i> (AM04)	-	38	14	18	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> (AM1056)	-	32	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (AM103)	-	35	12	14	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (AM1272)	-	11	-	15	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (AM1210)	-	11	-	15	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (AM235)	-	31	-	-	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i> (AM245)	-	28	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> (AM1050)	-	26	-	-	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (AM410)	-	24	-	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (AM206)	-	16	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> (AM1046)	-	24	-	-	-	-

Halos de inibição (mm). Os traços (-) indicam ausência de halo de inibição. **DMSO:** Dimetilsulfóxido. **TTR:** Tetraciclina.

Os resultados da Concentração Inibitória Mínima foram analisados de acordo com Tanaka et al., 2005 e demonstrado na Tabela 2. O EMBF da *S. alata* mostrou baixa atividade contra *B. subtilis* (AM04), *S. aureus* (AM103) e *S. aureus* (AM1210) e não foi eficaz contra *S. aureus* (AM1272). Embora o extrato de *S. alata* tenha apresentado um halo de inibição superior ao padrão (tetraciclina), o MIC não se comportou de forma equivalente.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima do EMBF de *S. alata* (L.) Roxb sobre as linhagens de *S. aureus* e *B. subtilis*.

Linhagens Bacterianas	Controle	<i>S. alata</i>
	TTR (µg/ml)	(µg/ml)
<i>B. subtilis</i> (AM04)	0,062	250
<i>S. aureus</i> (AM103)	0,25	1000
<i>S. aureus</i> (AM1272)	>32	> 1000
<i>S. aureus</i> (AM1210)	32	1000

TTR: Tetraciclina

De acordo com Ibrahim e Osman, 1995, o extrato de *S. alata*, foi inativo para as cepas bacterianas: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *K. pneumoniae*. A baixa atividade antimicrobiana também foi identificada em estudos de Awal, et al, 2004. A análise do extrato de *S. alata* frente a oito microrganismos, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Serratia sp.* *Salmonella typhimurium* e *C. albicans*, mostraram atividade apenas para *S. aureus* (Ordonez et al., 2004).

Os resultados antimicrobianos apresentados neste trabalho estão de acordo com a literatura, mostrando que os EMBF *S. alata* (L.) Roxb e *S. siamea* (Lam). são praticamente inativos contra *S. aureus*. Embora alguns estudos tenham demonstrado atividade contra esta cepa, possivelmente está relacionado à concentração de metabólitos secundários, tais como flavonóides e terpenos, que têm atividade antimicrobiana. Dado que estes componentes estão presentes em *S. alata* e sua concentração pode variar de acordo com a localização, tempo de colheita e método de extração, as diferenças encontradas nesta atividade podem ser bem justificadas.

3.2 Ensaio Hemolítico

Analisando os resultados da atividade hemolítica do EMBF *S. alata* (L.) Roxb e *S. siamea* (Lam), tabela 3, ambas ficaram com CE50 acima de 200/ml. Considerando ativas as substâncias que apresentam CE50 <200 / ml, foi constatada a inatividade hemolítica dos extratos trabalhados.

A atividade biológica das plantas está associada aos metabólitos secundários. Entre estes, as saponinas através de sua capacidade de causar alteração na permeabilidade da membrana celular levando a ruptura da mesma, está associada a atividade hemolítica. A

ausência desse metabólito, evidenciado após a caracterização fitoquímica dos extratos, justifica a ausência de atividade hemolítica.

3.3 Atividade Citotóxica

Uma escala de intensidade foi utilizada para avaliar o potencial citotóxico das amostras testadas. Sem atividade (1 a 20% de inibição do crescimento), baixa atividade (20 a 50% de inibição do crescimento), atividade moderada (50 a 70% de inibição do crescimento) e elevada atividade (100% de inibição do crescimento) (Founche et al., 2008).

Adotando estes critérios de classificação de atividade, ambos os extractos, na concentração de 50 µg/mL, obtiveram os seguintes resultados (Tabela 3): inativos contra HEP. Demonstrou baixa atividade para MCF-7. Quanto à NCL, *S. alata* foi inativa e *S. Simea* mostrou baixa atividade.

Tabela 3: Atividade Citotóxica e Hemolítica do EMBF de *S. alata* (L.) Roxb e *S. siamea* (Lam)

	Citotoxicidade			Atividade Hemolítica
	IC ₅₀ (µg/ml)			CE50 (µg/ml) CI 95%
	NCL	HEP	MCF-7	
<i>S. alata</i>	19,63719	0	29,98806	1016
<i>S. siamea</i>	33,93378	0	34,28913	1149
Doxorrubicina	87,92338	78,12085	57,35962	-

IC50 (concentração que inibe 50% do crescimento celular em relação ao controle). EC50: são as concentrações que causam 50% de hemólise em relação à observada em controle positivo.

A busca por compostos com efeito anticancerígeno tem-se intensificado nos últimos anos. Várias espécies do gênero *Senna*, em estudos anteriores, mostraram atividades anticâncer, como *S. occidentalis* (Quignard et al., 2003). Um estudo de Calderón et al. (2006) para esta espécie, foi capaz de atuar seletivamente contra o câncer de mama. As sementes de *S. fistula*, de acordo com Gupta et al., 1989 mostraram atividade contra o carcinoma de Ehrlich. Entretanto, outras espécies do mesmo gênero não apresentaram citotoxicidade, tais como a *S. alexandriana* (Peron et al, 2008) e extratos das folhas de *C. grandis* (Magalhães et al, 2012). Se comportando de forma semelhante aos EMBF de *S. alata* e *S. siamea*.

Extrato de *S. siamea*, um estudo realizado por Ntandou, et al, 2009, não mostrou citotoxicidade, confirmando os resultados obtidos neste trabalho.

4. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos, foi evidenciada a ausência de atividade antimicrobiana do EMBF de *S. siamea*. O EMBF de *S. alata* mostrou atividade moderada contra *B. subtilis* (AM04) e atividade baixa contra *S. aureus* (AM103) e *S. aureus* (AM1210). Ambos os extratos mostraram-se inativos frente à atividade hemolítica e citotóxica.

É necessário estudo com outras frações do extrato, uma vez que as atividades estão diretamente relacionadas com as concentrações dos metabolitos secundários que diferem pela polaridade dos solventes utilizados na extração.

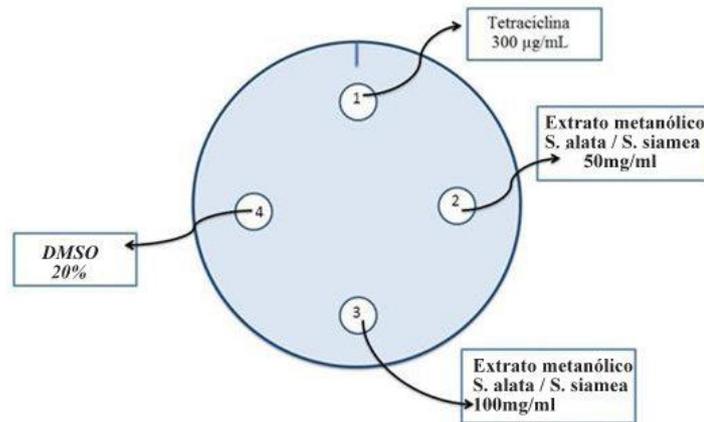


Figura 1: Disposição das amostras na placa de petri durante o ensaio de poços.

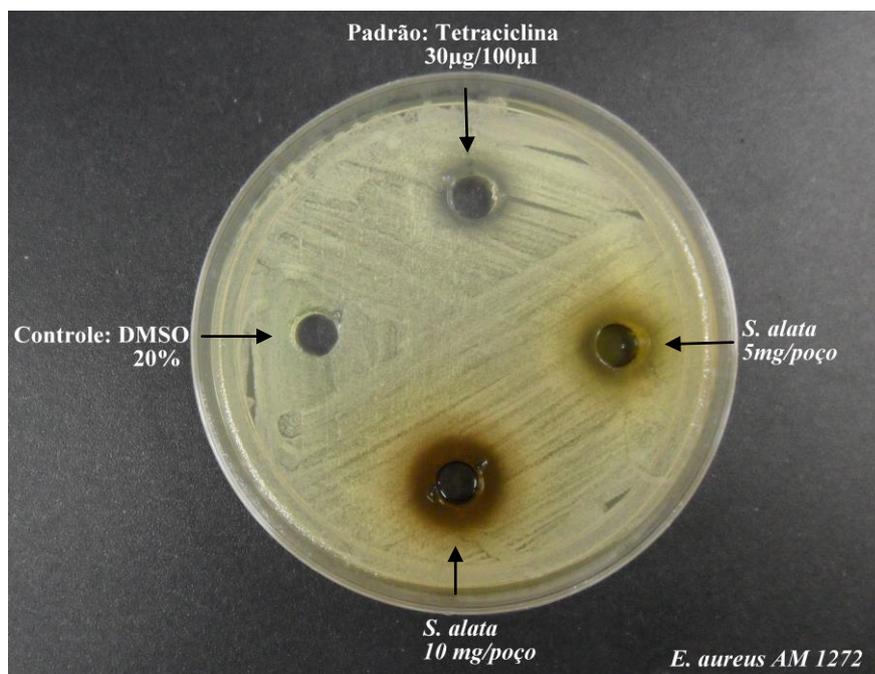


Figura 2: Ensaio antimicrobiano por técnica de poços frente a *E. aureus* AM 1272

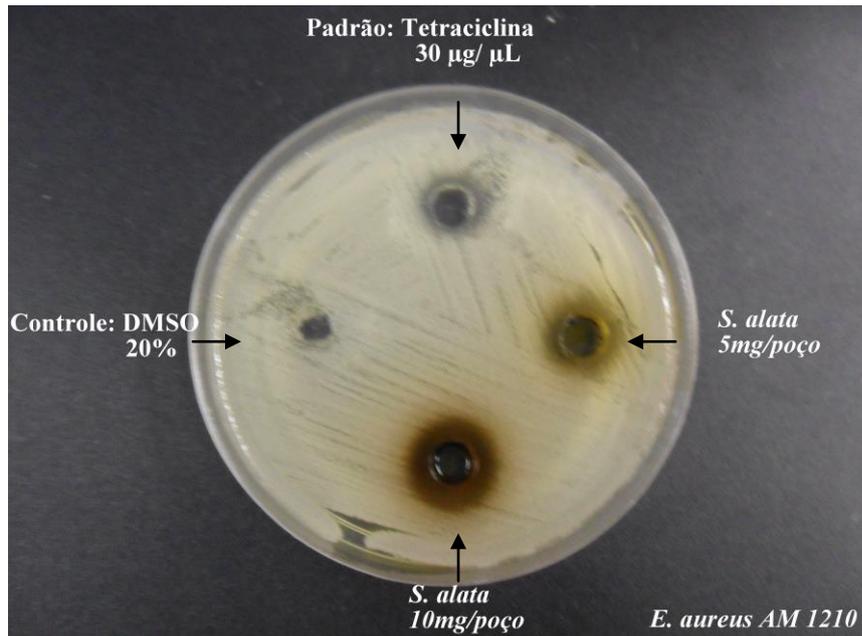


Figura 3: Ensaio antimicrobiano por técnica de poços frente a *E. aureus* AM 1012

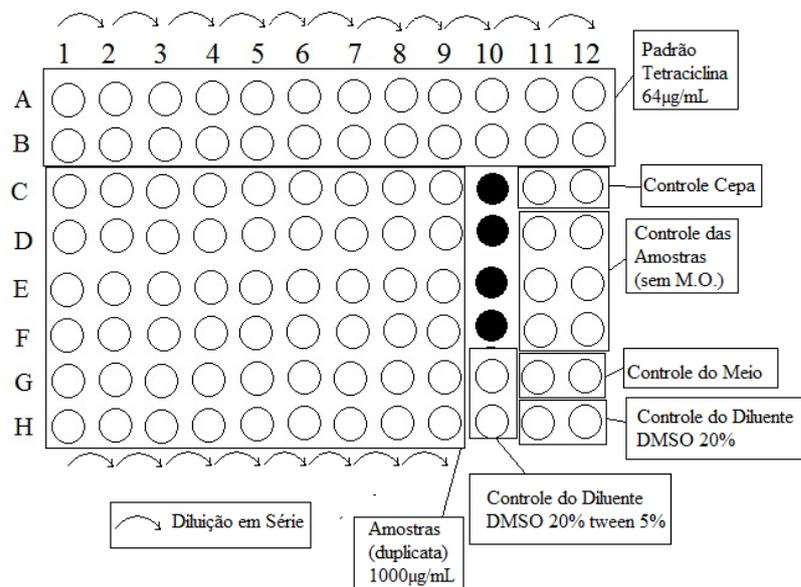


Figura 4: Descrição da distribuição das drogas na microplaca de 96 poços durante análise antimicrobiana por determinação da CMI.

7. Capítulo IV

**AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE AGUDA E ATIVIDADE LAXANTE
DO EXTRATO METANÓLICO BRUTO DAS FOLHAS DE *Senna siamea* (Lam.)
e *Senna alata* (L.) Roxb. (FABACEAE)**

1. INTRODUÇÃO

A utilização das plantas medicinais com finalidades terapêuticas e profiláticas para várias doenças é uma das práticas médicas mais antigas. O conhecimento a respeito de seus usos vem sendo transmitido desde o início da civilização até os dias de hoje (CARVALHO, 2011; VEIGA JR et al., 2005).

Apesar das plantas possuírem efeitos curativos que são conhecidos popularmente, o ser humano desconhece o fato de que elas podem apresentar toxicidade tanto para o homem quanto para os animais, por isso faz-se necessário à avaliação de seus efeitos tóxicos (MARTINS et al., 2012; RODRIGUES; et al, 2010). A compreensão do potencial toxicológico das plantas é dificultada, mediante o desconhecimento de todos os componentes químicos e as quantidades exatas no vegetal. Em geral, alguns compostos isolados, são farmacologicamente testados, no entanto não proporciona uma imagem completa do produto a base de plantas, porque normalmente vários componentes são responsáveis pelos efeitos terapêuticos. Estes compostos podem trabalhar em sinergismo, sendo inativos ou diminuindo o potencial farmacoterapêutico, quando testados isoladamente. Além disso, os metabólitos podem variar, dependendo da safra, origem do vegetal, processo de preparação, entre outros fatores (WALKER, 2004).

Espécies do gênero *Senna* são conhecidas pela sua utilização popular como laxativo e purgativo. Estudos farmacológicos de algumas espécies comprovaram propriedades antimicrobianas (SAMMY et al, 2000), anti-inflamatória (CUELLAR et al, 2001), antifúngica (PALAMICHAMY; NAGARAGAN, 1991) e antimalárica (TONA et al, 1999).

S. occidentalis, *S. obtusifolia*, *S. fistula*, *S. lindheimeriana*, *S. fasciculata*, apresentou toxicidade em bovinos (SCHMITZ; DENTON, 1977).

Hepatotoxicidade grave, embora incomum, pode ser evidenciada após exposições a quantidades anormais de metabólitos tóxicos como glicosídeos de antraquinonas (senosídeos) (VANDERPERREN et al., 2005). Segundo Van Gorkom et al. (1999), componentes químicos de espécies do gênero *Senna*, como a *S. alexandrina* pode ser carcinogênico em camundongos e ratos, e o uso crônico ou abusivo deste agente resultou em sintomas, tais como dor abdominal, náusea e diarreia crônica.

Entretanto, de acordo com Hietala et al. (1987), Senosídeos são os principais metabólitos ativos de *Senna* e exibem uma toxicidade muito baixa em ratos.

A presença de antraquinonas no gênero *Senna* constitui um caráter quimiotaxonômico (FALKENBERG, 2007; RODRIGUES et al. 2009b). Várias espécies desse gênero são

comumente empregadas devido à ação laxativa das antraquinonas (BARBA et al., 1992; VIEGAS JUNIOR et al., 2006; FALKENBERG, 2007; LOMBARDO et al., 2009).

A utilização de várias espécies do gênero *Senna*, nas últimas décadas, promoveu maiores interesses na descoberta da ação toxicológica dos extratos, assim como de compostos purificados. Estudos relatam que alcalóides e antraquinonas, estão envolvidos no potencial tóxico apresentado por plantas desse gênero. Enquanto os compostos de antraquinonas são responsáveis pela atividade laxante dessas espécies.

Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade aguda, assim, como a atividade laxante do extrato metanólico bruto das folhas (EMBF) de *S. siamea* (Lam.) e *S. alata* (L.) Roxb.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Local de Trabalho

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos – LBPF, do Departamento de Antibióticos, na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.2 Material botânico

As folhas de *S. alata* (L) Roxb. e *S. siamea* (Lam.), foram coletadas no Campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e no Campus da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), respectivamente, em março de 2012.

As exsiccatas foram depositadas no Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA), sob números de tombamento **87.186** e **87.187**, respectivamente.

2.3 Preparação dos extratos

A secagem das folhas foi realizada em estufa a 45°C por 72h, e em seguida pulverizadas. A extração de componentes foi obtida por maceração durante sete dias, usando metanol (100g/L) como solvente. A solução resultante foi concentrada à pressão reduzida em evaporador rotativo (BUCHII-RE) a 40°C.

2.4 Animais

Foram utilizados camundongos albinos Swiss (*Mus musculus*), machos, com pesos entre 25-35g e aproximadamente 60 dias de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em condições controladas de iluminação (ciclo 12 horas claro/escuro), temperatura ($22 \pm 3^\circ$) e receberam água e ração *ad libitum*. O manuseio dos animais durante o experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE (Processo número 23076.036439/2012-34).

2.5 Toxicidade Aguda

Para a avaliação deste ensaio foi empregada à metodologia recomendada pela Organisation for Economic Co-operation and Development, (OECD 2011), onde três camundongos receberam por via oral uma dose de 2.000 mg/kg dos EMBF de *S. alata* e *S. siamea*. Após a administração os animais foram observados continuamente por uma hora e depois a cada 24 horas durante 14 dias, para verificação de qualquer alteração comportamental, fisiológicas ou mortalidade. Os animais foram avaliados pelo método de screening hipocrático, que verificou o comprometimento do animal como: estado de consciência, disposição, atividade e coordenação do sistema motor e tônus muscular, atividade do sistema nervoso central e autônomo do animal. Ao final do experimento, os animais sobreviventes foram pesados e sacrificados.

Para análise histopatológica, foram obtidas amostras do fígado, rim e baço que depois de fixados em formol por 24 horas, foram mantidas em álcool etílico (70%), até a inclusão em parafina por meio da metodologia convencional. Cortes de 5 μ m de espessura foram colhidos em lâminas sinalizadas, coradas com Hematoxilina e Eosina e então observados ao microscópio de luz.

2.6 Atividade Laxante

Neste teste foi utilizada a metodologia modificada de Rao et al., (1997). Após 12h de jejum sólido, com água *ad libitum*, os animais foram divididos em grupos (n = 6), nos quais foram administrados, por gavagem, 10 ml/kg de solução salina a 0,9% (veículo), 2mg/kg de Sulfato de atropina (controle negativo), 0,01 ml/g de óleo de rícino (controle positivo) e o extrato de *S. alata*, *S. siamea* (grupos tratados), nas doses de 65,2 mg/kg, 125 mg/kg e 250 mg/kg. Após 30 minutos, todos os animais receberam 0,1 mg/ml de carvão ativado em solução salina 0,9% (10 ml/kg – via oral). Decorrido 30 min, os animais foram eutanasiados em câmara de CO₂. A cavidade abdominal foi aberta e a intestino delgado removido. Com

auxílio de uma régua milimetrada, o comprimento total do intestino delgado (piloro à válvula íleo-cecal) e a distância percorrida pelo carvão ativado (última porção que contenha pelo menos 1 cm contínuo do marcador) foram medidos e calculados a porcentagem do percurso do carvão em função do comprimento total do intestino.

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm SEM. As diferenças entre os grupos experimentais foram analisadas por análise unidirecional de variância (ANOVA) seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey post hoc para determinar o nível de significância. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o software Graph Pad Prism ® 5.0. P valores menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

3 RESULTADOS E DISCUSÃO

3.1 Toxicidade Aguda e determinação da DL₅₀.

Durante a avaliação comportamental, os animais apresentaram reações semelhantes, das quais nos primeiros 30 minutos houve prevalência de agitação, movimentos de vibrissas, movimentos estereotipados e circulares, aumento da frequência respiratória, tremores finos, postura em garra, irritabilidade, reação de fuga e piloereção, caracterizando reações excitatórias e estimulantes. Após esse período, foram observadas reações depressoras, tais como: abaixamento do trem posterior, prostração, alteração de macha e postura estática. Além dessas, também foram evidenciados coceira, diurese, excreção fecal e espasmo.

As reações de excitabilidade seguida por depressiva sugerem a redução da quantidade de neurotransmissores estimulantes liberados durante a fase excitatória (FAI et al., 2005).

Ao final dos 14 dias não foi observado nenhum óbito e nem mudanças comportamentais. Todos os grupos (controle e tratados) apresentaram ganho de peso, entretanto não houve diferença estatisticamente significativa entre eles.

De acordo com as normas estabelecidas pela OECD 423, o EBMF de *S. alata* e *S. siamea* apresentaram baixa toxicidade por via oral.

3.1.1 Análise macroscópica e histológica dos órgãos fígado, rins e baço.

A análise macroscópica dos órgãos, não evidenciou alterações quanto ao aspecto e coloração.

Fígado

A variação do peso do fígado, está demonstrado no gráfico 1, mediante análise do mesmo pode-se verificar que os animais tratados com EMBF de *S. siamea*, apresentaram aumento significativo do peso, quando comparado com o grupo controle. O mesmo foi não evidenciado para o grupo tratado com *S. alata*.

Na análise histológica do fígado (Fig.1), foram identificados nos grupos dos tratados com ambos os extratos, finas vacuolizações citoplasmáticas. Nos tratados com EMBF *S. siamea* intensa atividade mitótica dos hepatócitos. E nos tratados com EMBF *S. alata*, veia centrolobular congesta de sangue. Enquanto que o grupo controle apresentou veia centrolobular, hepatócitos e capilares sinusóides preservados. As alterações evidenciadas nos grupos tratados são indicativos de hepatotoxicidade aguda. A intensa atividade dos hepatócitos apresentada no tratado com *S. siamea*, pode explicar a hiperplasia hepática evidenciada na análise macroscópica.

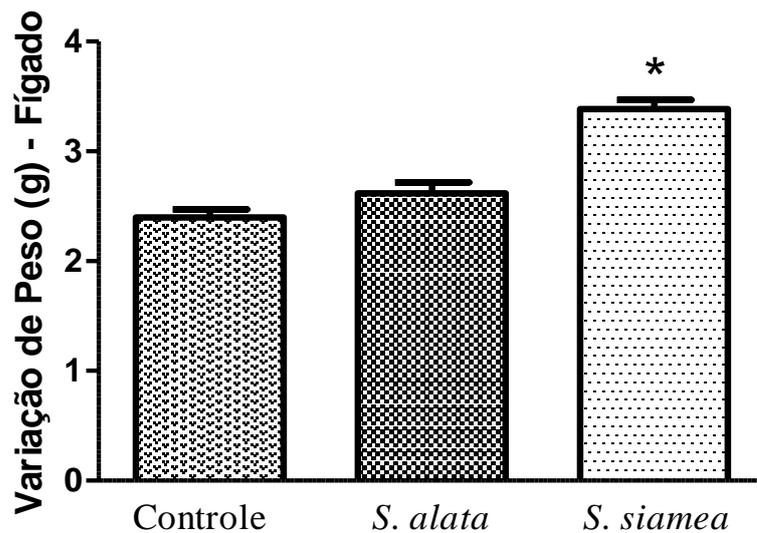


Gráfico 1: Variação do peso (g) do fígado dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EMBF *Senna alata* (2000mg/kg) e EMBF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre grupo tratado em relação ao grupo controle.

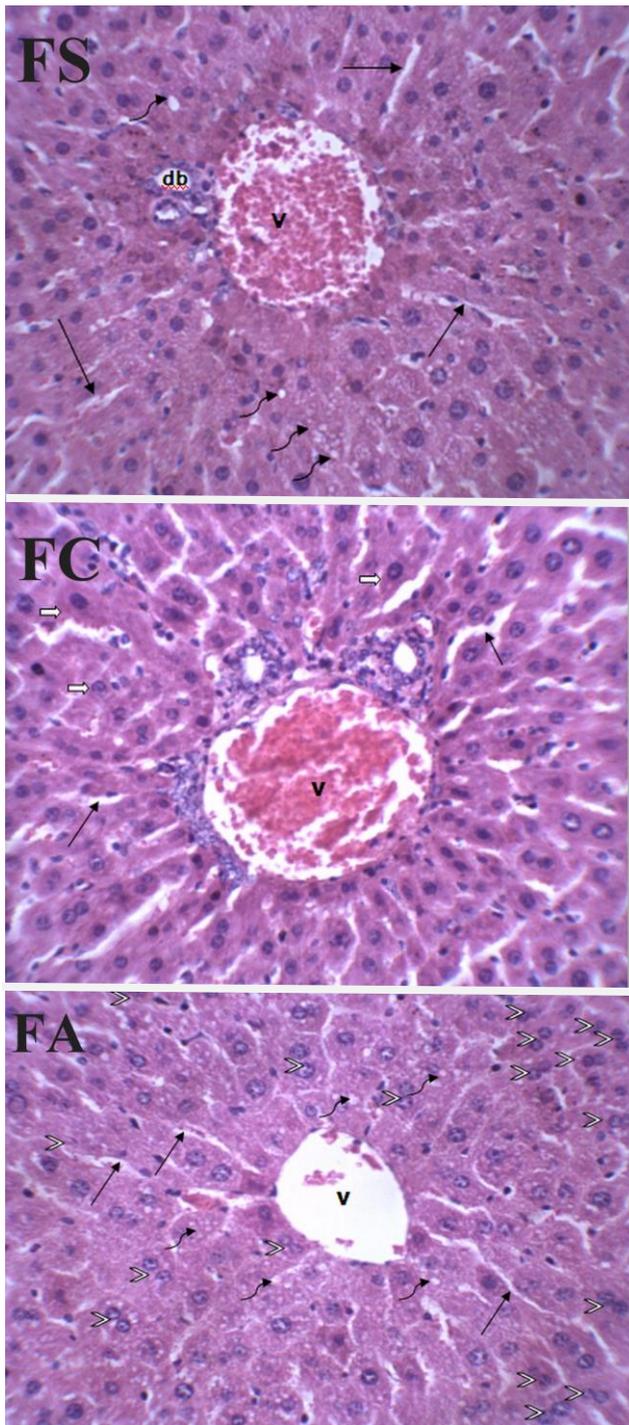


Figura 1: do fígado dos grupos *S. siamea* (FS), controle (FC) e *S. alata* (FA) **FS:** Observa-se veia centrolobular congestionada de sangue (v) e finas vacuolizações citoplasmáticas nos hepatócitos (**setas finas e curvas**). Presença de ducto biliar (db) e capilares sinusóides preservados (setas retas finas). **FC:** observa-se veia centrolobular (v), hepatócitos (**setas brancas curtas**) e capilares sinusóides (**setas finas**) preservados, respectivamente. **FA:** Identifica-se veia centrolobular (v), intensa atividade mitótica nos hepatócitos (**cabeças de seta**), discretas vacuolizações no citoplasma dos hepatócitos (**setas finas e curvas**) e presença de capilares sinusóides (**setas finas retas**). H.E.: 400X.

Rins

A avaliação da toxicidade renal está representada no gráfico 2 e na Fotomicrografia (Fig. 2) abaixo. Na análise macroscópica, o peso dos rins dos grupos tratados foram superiores, de forma estatisticamente significativa, quando comparado ao grupo controle (gráfico 2). Na análise histológica observaram-se congestos de sangue nos glomérulos renais, em ambos os tratados. Nesses grupos, não foram encontrados alterações nos espaços subcapsulares e túbulos coletores.

O grupo controle apresentou glomérulos renais na cortical com espaços subcapsulares preservados e túbulos coletores sem alterações na região medular (Fig. 2). Mediante resultado histológico do rim para os grupos tratados, foi observado alterações a nível renal.

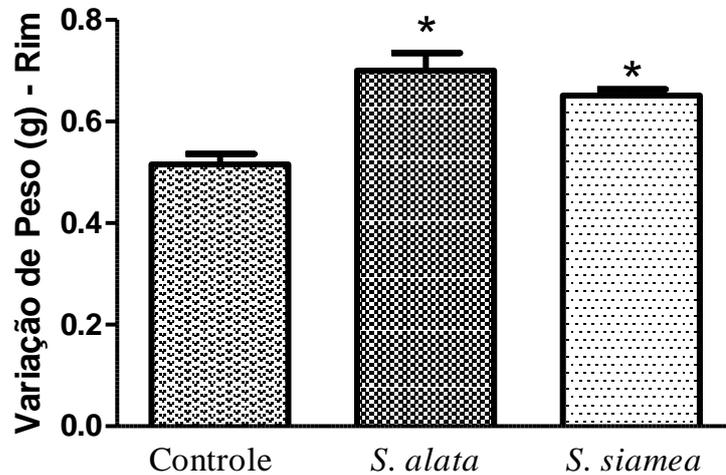


Gráfico 2: Variação do peso (g) do rim dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EMBF *Senna alata* (2000mg/kg) e EMBF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre o grupo tratado em relação ao grupo controle.

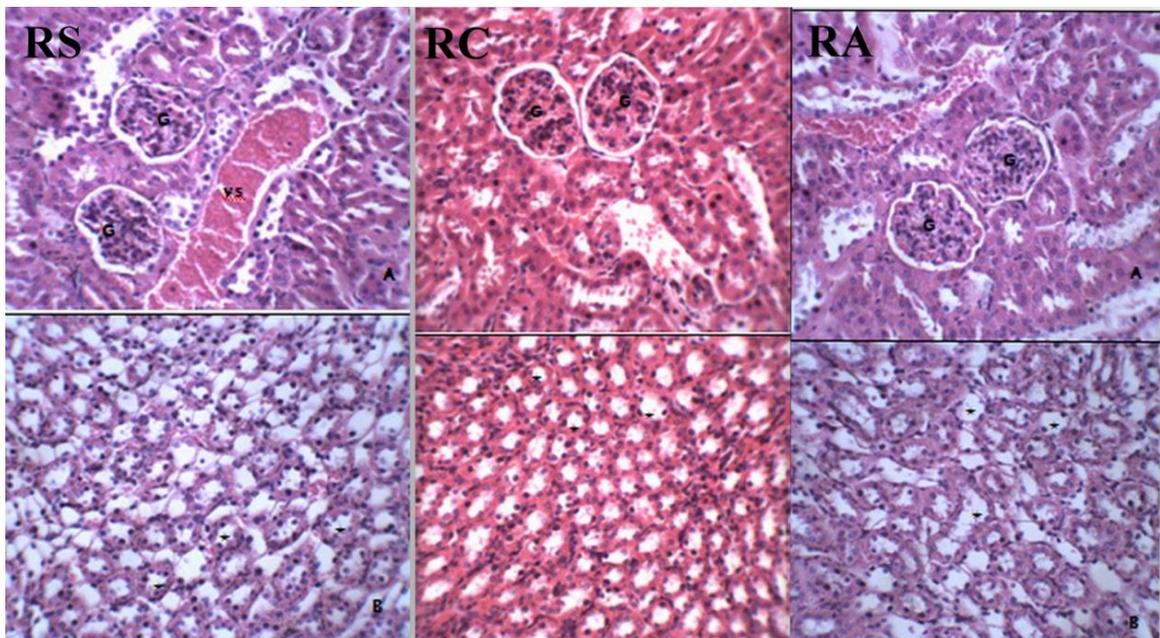


Figura 2 - Fotomicrografias do rim dos animais tratados com EMBF de *S. siamea* (RS), controle (RC) e tratado com EMBF de *S. alata* (RA). **RS:** Observa-se presença de glomérulos renais e vaso sanguíneo congestionado de sangue, espaços urinários conservados (G) e túbulos coletores também conservados na região medular do rim (**estrelas**). **RC:** nota-se glomérulos renais na cortical (G) com espaços subcapsulares preservados e túbulos coletores (**estrelas**) sem alterações na região medular. **RA:** observa-se tufos de capilares glomerulares congestionados de sangue (G), com espaços subcapsulares ainda conservados. **B)** Túbulos coletores preservados (**estrelas**). H.E.: 400X.

Baço

De acordo com o gráfico 3, a variação do peso do baço não foi estatisticamente significativa entre os grupos tratados e controle. Na fotomicrografia do grupo tratado com EMBF *S. alata*, foi evidenciado a presença de nódulos linfáticos aumentados (ativado) na periferia e outros em forma variada no interior do órgão. Nos tratados com EMBF *S. siamea*, nota-se um conglomerado de nódulos linfáticos mais centralizados e alguns irregulares dispersos na periferia. O grupo controle apresentou nódulos linfáticos preservados na periferia e de forma agrupada no interior do órgão. Sendo o baço um órgão linfóide, o mesmo pode apresentar alteração na produção de células de defesa mediante diversos fatores que põe em risco a homeostasia do organismo. Conforme expresso nos resultados, alterações a nível histopatológico do órgão, foi evidenciado, caracterizando reações tóxicas aguda dos extratos.

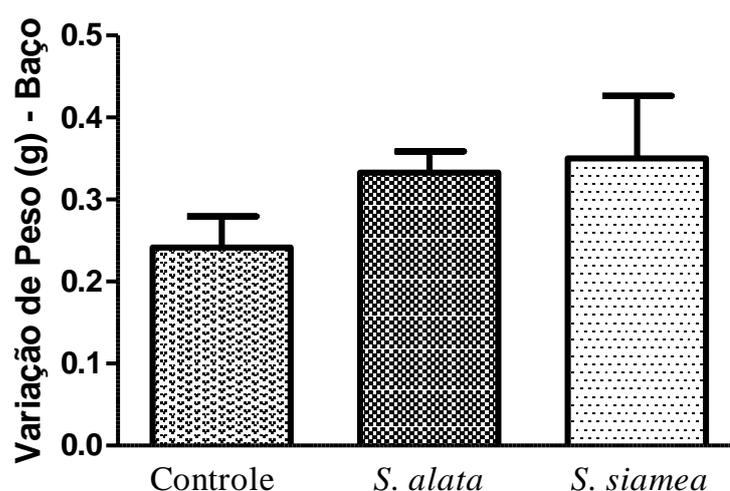


Gráfico 3: Variação do peso (g) do baço dos animais dos grupos controle (SF 0,9%), EMBF *Senna alata* (2000mg/kg) e EMBF *Senna siamea* (2000mg/kg) Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. * variação estatisticamente significativa entre grupo tratado com relação ao grupo controle.

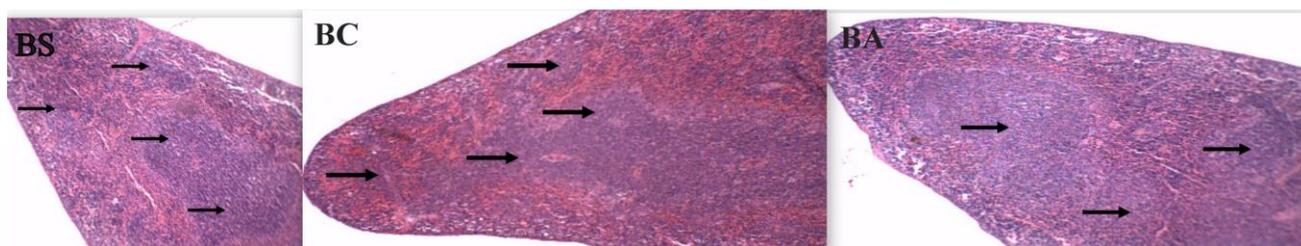


Figura 3 - Fotomicrografias do baço dos animais tratados com EMBF de *S. siamea* (BS), controle (BC) e tratado com EMBF de *S. alata* (BA). **BS:** Nota-se um conglomerado de nódulos linfáticos mais centralizados (**setas retas**) e alguns irregulares dispersos na periferia. **BC:** Observa-se presença de nódulos linfáticos preservados na periferia e de forma agrupada no interior do órgão linfóide (**setas longas**). **BA:** Observa-se presença de nódulo linfático aumentado (ativado) próximo à periferia e outros com forma variada no interior do órgão linfóide (**setas longas**). H.E.: 100X.

Outras espécies do gênero *Senna* apresentaram perfil toxicológico semelhante ao encontrado no presente trabalho, tais como a *S. alexandrina*, fitoterápico comercializado e muito utilizado na terapia de constipação. Há relatos do envolvimento desta planta em casos de hepatite após a ingestão de doses elevadas. A lesão hepática retornou após novas exposições ao extrato de *S. alexandrina*. Hepatotoxicidade pode estar relacionado com alcalóides e senosídeos, os principais metabólitos da folha e fruto do gênero *Senna*. Senosídeos são metabolizadas no intestino para Antron, que tem uma estrutura química semelhante à dantron, uma substância conhecida por ser hepatotóxico (BEUIRS, et al. 1991; LARREY; PAGEAUX, 1991). Estudos conduzidos por Muyibi et al. (2000) indicaram certo nível de toxicidade no uso terapêutico *S. occidentalis* já que foram evidenciadas alterações hematológicas e histopatológicas em ratos tratados com extrato aquoso das folhas. Segundo alguns autores, as toxoalbuminas, os alcalóides, e as antraquinonas são considerados os possíveis responsáveis pela toxicidade das sementes da *S. occidentalis* (MOUSSU, 1925; KIM et al., 1971; KEAN et al., 1971). Uma pesquisa realizada por Nsonde-Ntandou, et al. (2010), mostrou que a administração dos extratos aquoso e alcoólico de *S. siamea* não causou morte nos animais até a dose de 3000 mg/kg. No entanto, *S. alata* é suspeita de ser tóxica aos rins e, ainda, considerada abortiva (LORENZI, 2000; PLANTAMED, 2013).

Compostos nefrotóxicos podem chegar aos rins, devido ao mau funcionamento do fígado, e conseqüentemente causar dano ao órgão. Os indícios de toxicidade apresentado pelo baço, pode ser devido aos danos causados nos demais órgãos.

3.2 Atividade Laxante

No gráfico 4, está representado o efeito da atividade laxante dos grupos: controle (SF 0,9%), Atropina (controle negativo), óleo de rícino (controle positivo) e os tratados com EMBF de *S. siamea* (62,5mg/kg, 125mg/kg e 250mg/kg). Após análise, verifica-se semelhança de atividade entre os grupos de tratados, e entre os tratados e o grupo controle, não havendo diferença estatisticamente significativa entre eles. Entretanto foi identificada diferença significativa entre o grupo tratado e atropina, no qual este apresentou motilidade inferior aos extratos. Esse era um comportamento esperado, pois atropina é um agente antiespasmótico, que reduz a motilidade do intestino. Nos grupos que foi administrado óleo de rícino, este já comercializado com indicação laxativa, apresentou motilidade superior aos tratados.

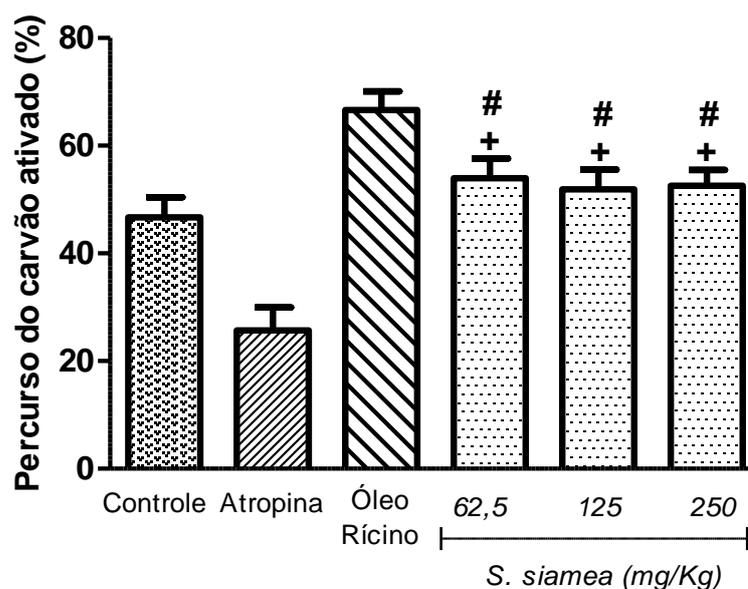


Gráfico 4: Efeito laxativo do EMBF *Senna siamea*, utilizando óleo rícino (agente diarréico) e Atropina (agente constipante). Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. (#) variação estatisticamente significativa com o grupo atropina. (+) variação estatisticamente significativa com o grupo óleo rícino.

O efeito da atividade laxante de *S. alata* está representado no gráfico 5. Os animais tratados com EMBF de *S. alata*, apresentaram comportamento semelhante aos tratados com *S. siamea*. Não foi evidenciado diferença significativa entre as diferentes doses do grupo tratado e entre o tratado e o grupo controle. Porém houve diferença estatisticamente significativa

entre os grupos tratados (62,5mg/kg e 250mg/kg) e Atropina, e tratados e óleo de rícino. Nos quais, os tratados apresentaram atividade maior que a atropina e menor que o óleo rícino. O tratado *S. alata* (125mg/kg) diferentemente dos demais, apresentou comportamento semelhante ao controle negativo (atropina).

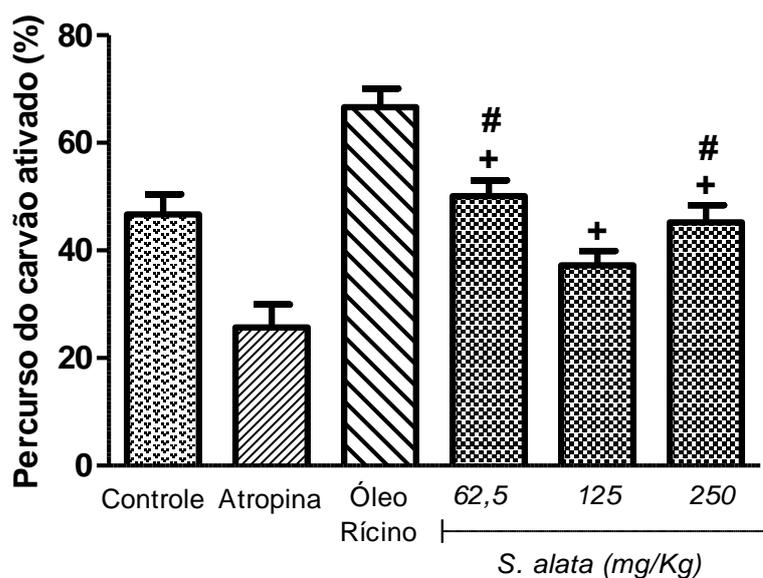


Gráfico 5: Efeito laxativo do EMBF *Senna alata*, utilizando óleo rícino (agente diarréico) e Atropina (agente constipante). Colunas e barras verticais representam a porcentagem de média e SEM, respectivamente. (#) variação estatisticamente significativa com o grupo atropina. (+) variação estatisticamente significativa com o grupo óleo rícino

De acordo com Ahn et al. (1978), Nsonde-Ntandou et al. (2005), Kaur et al. (2006), a *S. siamea* é uma planta medicinal muito difundida e cultivada no sudeste da Ásia e da África sub-saariana. A casca do caule é tradicionalmente usada contra prisão de ventre, malária e associados doenças como a febre e icterícia. Thamlikitkul et al. (1990), associa a atividade laxante da *S. alata*, a composição química da mesma.

Compostos de antraquinonas são extraídos a partir de folhas secas e vagens de *Cassia angustifolia* Vah. Esse metabólito é amplamente utilizado como laxante (LAITINEN, 2007).

Conforme demonstrado na literatura, várias espécies do gênero *Senna* apresentam atividade laxante associada ao composto antraquinona. Embora antraquinonas tenham sido identificadas na caracterização fitoquímica dos EMBF da *S. alata* e *S. siamea*, não foi evidenciado atividade laxante. O resultado obtido pelo presente estudo não está de acordo

com a literatura, podendo essa divergência de atividade está relacionada a concentração do metabólito na planta, podendo variar de acordo com local e mês do ano, assim como procedimento extrativo.

4 CONCLUSÃO

Embora os EMBF de *S. siamea* e *S.alata*, não tenham ocasionado óbito dos animais, sendo classificada como atóxica ou com baixa toxicidade, conforme preconiza a OECD 423, foram evidenciados indícios de toxicidade aguda em análise histopatológica dos órgãos: fígado, rim e baço. Os referidos extratos em estudo não demonstraram atividade laxante, mesmo apresentando na caracterização fitoquímica o principal composto responsável pela atividade, antraquinonas.

Os dados obtidos no presente trabalho nos fornecem um parâmetro para o estabelecimento de uma margem terapêutica segura, assim como possíveis atividades terapêuticas apresentada pelo material vegetal, mediante os compostos fitoquímicos identificados. Esses resultados nos permitem da continuidade a pesquisa, implantando novos protocolos experimentais com perspectivas de novos resultados sugestivos para a ampliação de atividades terapêuticas relevantes.

Tabela 1 - Sinais clínicos da toxicidade observada em camundongos albinos Swiss machos, tratados com dose 2000mg/kg do EBMF da *Senna siamea* e *Senna alata*, por via oral.

EFEITOS	S. siamea 2000mg/kg	S. alata 2000mg/kg	Controle SF 0,9%
Estimulantes			
Agitação	3	1	3
Aumento da frequência respiratória	1	1	1
Convulsão Focal	0	1	1
Convulsão clônica	0	0	0
Ereção de cauda	1	0	0
Irritabilidade	0	0	0
Levantamento de trem posterior	0	0	0
Movimentos estereotipados	1	1	2
Movimentos circulares	1	1	2
Movimentos de vibrissas	1	1	3
Piloereção	1	1	1
Postura de ataque	3	3	3
Saltos	0	0	2
Tremores finos/grosseiros	1	1	0
Depressores			
Abaixamento de trem posterior	0	1	1
Alteração de marcha	2	1	1
Diminuição da frequência respiratória	0	0	0
Dispnéia	0	0	0
Prostração	0	1	0
Sonolência	0	0	0
Postura estática	0	1	0
Outros			
Agressividade	1	3	0
Cianose	0	0	0
Coceira	3	3	1
Contorções abdominais	0	0	0
Distensão abdominal	0	0	0
Diurese	0	1	1
Diarréia	0	0	0
Espasmos	1	1	1
Espasticidade	0	0	0
Excreção fecal	2	1	2
Reação de fuga	3	3	3
Refluxo	0	2	0

0 = sem efeito 1 = efeito leve 2 = efeito moderado 3 = efeito acentuado

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Foi evidenciada a presença dos metabólitos secundários: açúcares redutores, antraquinonas, cumarinas, monoterpenos e sesquiterpenos, triterpenos e esteróides e flavonóides, nos extrato metanólico bruto das folhas de *S. alata* e *S. siamea*.
- Após CG/MS do óleo essencial da *S. siamea* foi possível elucidar os três compostos majoritários: ácido n-Hexadecanóico (20.08%), Fitol (47.04%) e o ácido 9,12,15-Octadecatrienóico (4.25%). O OE *S. siamea*, Quando submetido ao bioensaio larvicida, não apresentou atividade.
- O EBMF de *S. siamea*, não apresentou atividade anti-microbiana. Enquanto o EBMF de *S. alata* apresentou atividade moderada contra *Bacillus subtilis*, e baixa atividade frente a *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus*.
- Ambos os extratos *S. siamea* e *S. alata*, não apresentaram atividade hemolítica e citotóxica, satisfatória.
- Devido a ausência de óbitos dos animais submetidos a dose de 2000mg/kg, de acordo com a OECD 423, podemos concluir que os vegetais estudados, *S. siamea* e *S. alata*, são atóxico ou apresentam baixa toxicidade. Entretanto foi evidenciado indícios de toxicidade aguda em análise histopatológica dos órgãos: fígado, rim e baço.
- Ambos os extratos *S. siamea* e *S. alata*, nas doses utilizadas, não apresentaram atividade laxante

REFERÊNCIAS

ABATAN, M.O, A note on the anti-inflammatory action of plants of some Cassia species. *Fitoterapia* 61, 336–338, 1998.

ABHAHAM, L. et al. *Ver. Cubana Med. Trop.*, v.31, n.2, p.105-12, 1979

ADAMS, R.P., 2009. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectrometry, fourth ed. Allured Publishing Co., Carol Stream, IL

AGARKAR, S. V.; JADGE, D. R.; *Asian J. Chem.* 11, 295, 1999.

AGRA, M.F, FRANÇA, P.F, BARBOSA, J.M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. *Rev Bras Farmacogn* 17, 114-140, 2007.

AHN, B.Z, DEGEN, U., LIENJAYETZ, C., PACHALY, P., ZYMALKOWSKI, F., Constituents of *Cassia siamea*. *Arch. Pharmacol.* 311, 569–578, 1978.

AHMAD - ALIZAGA, S.L; OLAYANJU, S. Phytochemical screening of the leaf extracts of *Senna siamea* Lam (Pop corn) and its antibacterial activity. *Biological and Environmental Sciences Journal for the Tropics*, 4, 2, 193 – 195, 2007.

AJAIYEoba, E.O., ASHIDI, J.S., OKPAKO, L.C., HOUGHTON, P.J., WRIGHT, C.W., Antiplasmodial compounds from *Cassia siamea* stem bark extract. *Phytotherapy Research* 22, 254–255, 2008.

AKERELE, O. Summary of WHO guidelines for assessment of herbal medicines. *HerbalGram*. 28, 13-19, 1993.

AKIYAMA, T.; ISHIDA, J.; NAKAGAWA, S.; OGAWARA, H.; WATANABE, S.; ITOH, N.; SHIBUYA, M.; FUKAMI, Y.; Genistein, a specific inhibitor of tyrosine-specific protein kinases. *Journal of Biological Chemistry* . 262, 5592-5595, 1987.

ALAM, N., GUPTA, P. C. *Planta Med.*, 4, 308-10,1986.

ALEMAYEHU, G., ABEGAZ, B. M. Bianthraquinones from the seeds of *Senna multiglandulosa*. *Phytochemistry*, 41, 3, 919-921, 1996.

ALEMAYEHU, G., ABEGAZ, B., KRAUS, W. A. 1-4, anthraquinone-dihydroanthracenone dimer from *Senna sophera*. *Phytochemistry*, 48, 4, 699-702, 1998.

ALLEY, D. S.; et all. Evaluation of a Soluble Tetrazolium/Formazan Assay for Cell Growth and Drug Sensitivity in Culture Using Human and Other Tumor Cell Lines. *Cancer Research*, v. 48, p. 589- 601, 1988.

ALLI SMITH, Y.R. Determination of chemical composition of *Senna siamea* (Cassia leaves). *Pakistan Journal of Nutrition*. 8, 119–121, 2009.

ALMEIDA S.P, PROENÇA, C.E.B, SANO, S.M. e RIBEIRO, J.F. Cerrado: Espécies vegetais úteis. Planaltina, EMBRAPA-CPAC, 1998.

ALVES TMA, et al. Biological screening of brazilian medicinal plants. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 95: 367-373. 2000.

ALVES EG, et al. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substâncias puras. *Quim. Nova*, 31(5): 1224-1229. 2008.

ALVES, F.M. e SARTORI, A.L.B. Caesalpinioideae (Leguminosae) de um remanescente de Chaco em Porto Murtinho, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rodriguésia*, 2009.

AMES, B.N.; *Science* 1983, 221, 1256.

ANGELY, J. Flora analítica do Paraná. Universidade de São Paulo, São Paulo, 1965.

APG II (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. *Botanical Journal Of the Linnean Societ.* 141. 399-436, 2003.

ANGERILLI, N.P.D. Influences of extracts of fresh water vegetation on the survival and oviposition by *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Can Entomol.* 112: 1249-1252, 1980.

ARAÚJO, E.C.C.; SILVEIRA, E.R.; LIMA, M.A.S.; ANDRADE-NETO, M.; ANDRADE, I.L.; LIMA, M.A.A.; SANTIAGO, G.M.P.; MESQUITA, A.L.M.. Insecticidal activity and chemical composition of volatile oils from *Hyptis martiusii* Benth. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51, 3760–3762, 2003.

ARECHE, C., CEJAS, P., THOMAS, P., SAN-MARTÍN, A., ASTUDILLO, L. GUTIÉRREZ, M. & LOYOLA, L.A. Triterpenoids from *Azorella trifurcata* (Gaertn.) Pers and their effects against the enzyme acetylcholinesterase. *Química Nova* 32, 2023-2025, 2009.

AREZZO, A. Prospective randomized trial comparing bowel cleaning preparations for colonoscopy. *Surgical Laparoscopy Endoscopy e Percutaneous Techniques.* 10, 215-217, 2000.

ASUMING, W.A.; et al, *Essential oil composition of four Lomatium Raf. species and their chemotaxonomy*, **Biochem. Syst. Ecol.**, 33, 17-26, 2005.

AUTRAN, E.S., et al., Chemical composition, oviposition deterrent and larvicidal activity against *Aedes aegypti* of essential oils from *Piper marginatum*, Jacq. *Bioresource Technol.* 100, 2284–2288, 2009.

AWAL, M. A. et al. Brine shrimp toxicity of leaf and seed extracts of *Cassia alata* Linn. and their antibacterial potency. *J. Med. Sci.*, 4, 3, 188-193, 2004.

BARBA, B., DIAZ, J.G & HERZ, W. . Anthraquinones and other constituents of two *Senna* species. In: *Phytochemistry* 31: 4374-4375. 1992.

BABB, R. R. Constipation and laxative abuse. *West J Med*, 122, 1, 93-96, 1975.

BABBAR, O. Ret al. *Indian. J. Exp. Biol*, 17, 5, 451-5, 1979.

BADKE, M. R. Conhecimento popular sobre o uso de plantas medicinais e o cuidado de enfermagem. 2008. 96p. Dissertação (Mestrado em Enfermagem)- Faculdade de Enfermagem. Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

BABU, V., T. GANGADEVE, AND A. SUBRAMONIAM. Antidiabetic activity of ethanol extract of *Cassia kleinii* leaf in streptozotocin-induced diabetic rats and isolation of an active fraction and toxicity evaluation of the extract. *Indian Journal of Pharmacology*. 35, 290-296, 2003.

BARBOSA FILHO, J. M., Medeiros, K. C. P., Diniz, M. F. F. M., Batista, L. M., Athayde-Filho, P. F., Silva, M. S., da-Cunha, E. V. L., Almeida, J. R. G. S. & Quintans-Júnior, L. J. Natural products inhibitors of the enzyme acetylcholinesterase. *Revista Brasileira de Farmacognosia (Brazilian Journal of Pharmacognosy)*. 16, 258-285, 2006.

BARREIRO, E.J, FRAGA, C.A.M. & ARAÚJO JR., J.X. 2007. O uso de produtos naturais vegetais como matérias-primas vegetais para a síntese e planejamento de fármacos. In: Simões C.M.O., Schenkel E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A. & Petrovick, P.R. (orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Universidade-UFRGS/Ed. UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, pp. 147-210.

BARRESE PÉREZ, Y., HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, M. E. Tamizaje fitoquímico de la droga y extracto fluido de La gacamaya francesa. *R. Cub. Plant. Med.*, 7, 3, 1-4, 2002.

BARRESE PÉREZ, Y., HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, M. E., PULPEIRO, O. G. Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L. *R. Cub. Plant. Med.*, 10, 2, 1-5, 2005.

BARROSO, G. M., MORIM, M. P., PEIXOTO, A. L. e ICHASSO, C. L. F. Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas. *Imprensa Universitária, Viçosa*, 443, 1999.

BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., COSTA, C.G., ICHASSO, C.L.F., GUIMARÃES, E.F. e LIMA, H.C. *Sistemática das Angiospermas do Brasil*. cap. 2. Viçosa, *Imprensa Universitária*, 1991.

BARROS, S.B., DAVINO, S.C. Avaliação da toxicidade. In: OGA, S. (Editor.) Fundamentos da toxicologia, cap. 2, São Paulo: Atheneu Editora, 59-63, 2003.

BEUIRS U, SPENGLER U, PAPE GR-Hepatitis after chronic abuse of senna. *Lancet* 337372, 1991.

BHARDWAJ, S., MATHUR, R. *Comp. Physiol. Ecol*, 4, 4, 277-9, 1979.

BIAVATTI, M.W, MARENSI, V, LEITE, S.N, REIS, A. Ethnopharmacognostic survey on botanical compendia for potential cosmeceutic species from Atlantic Forest. *Rev Bras Farmacogn* 17, 640-653, 2007.

BISWAS, K. M., MALLIK, H. *Phytochemistry (Oxford)*, 25, 7, 1727-30, 1986.

BORTOLUZZI, R.L.C. A subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) no estado de Santa Catarina, Brasil, Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

BRANDI, M.L. Natural and synthetic isoflavones in the prevention and treatment of chronic diseases. *Calcification Tissue International* 61, 1, 5-8. 1997.

BOLZANI, V. S.; GUNATILAKA, A. A. L.; KINGSTON, D. G. I.; *J. Bioativos guanidina Alcalóides de Pterogyne nitens*. *Journal Natural Products*, 58, 11, 1683-1688. 1995.

BOLZANI. V. S.; YOUNG, M. C. M.; FURLAN, M.; CAVALHEIRO, A. J.; ARAÚJO, A. R.; SILVA, D. H. S.; LOPES, M. N.; *An. Acad. Bras. Ci.* 71, 181, 1999.

BRITO, A. S. Manual de Ensaio Toxicológicos in vivo. São Paulo. Ed. Unicamp. p. 122, BRITO, M.V.H.; OLIVEIRA, R.V.B.; MORAIS, M.R.; LAMEIRA, A.O.1999. Efeito do óleo de copaíba no comportamento de ratos. *Rev Paul Med.*13, 1, 34-7, 1994.

BRUNETON, J. Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants. Lavoisier/Andover: Intercept, Paris. 1995.

BUKAR, A.; MUKHTAR, M.D.; HASSAN, A.S. Phytochemical screening and antibacterial activity of leaf extracts of *Senna siamea* (Lam) on *Pseudomonas aeruginosa*. *Bayero Journal of Pure and Applied Sciences*. 2, 139-142, 2009.

BURT, S. Essential Oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 3, 223-253, 2004.

CALDERÓN AI, et al. Screening of Latin American plants for cytotoxic activity. *Pharm Biol*. 44, 2, 130-40. 2006.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicine (phytotherapeutic agents). *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 33, 179-189, 2000.

CALIXTO, J. B. Fitofármacos no Brasil: agora ou nunca! *Ciência hoje*, [S.l.], 21, 1.234, 26-30, 1997.

CALIXTO, J. B. Medicamentos fitoterápicos. In: YUNES, R.; CALIXTO, J. B. *Plantas medicinais sob a ótica da química medicinal moderna*. 1ª Ed. Chapecó, SC. Argos Editora Universitária, UNOESCS, 7, 297 – 315, 2001.

CAPASSO, R., IZZO, A. A., PINTO, L., BIFULCO, T., VITOBELLO, C., MASCOLO, N., *Fitoterapia*, 71, S58, 2000.

CARLINI, E. A, RODRIGUES, E, MENDES, F.R, Tabach R, Gianfratti B. Treatment of drug dependence with Brazilian herbal medicines. *Rev Bras Farmacogn* 16, 690-695, 2006.

CARVALHO, L. S. Alterações clínicas e histológicas decorrentes de neurointoxicação por plantas medicinais. 2011. In: SEMINÁRIOS APLICADOS, Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2011.

CASTRO J.A. Toxicologia basica mecanismosa de toxicidad y sus aplicaciones. Acta Bioq. Clin. Latinoamericana, 2, 197-206, 1993.

CASTRO, P. R. C.; MEDINA, C. L.; ALMEIDA, M. Response of citrus variegated chlorosis (CVC) - infected 'Pera' sweet orange to growth regulators. Proceedings of the Interamerican Society for Tropical Horticulture, 43,104-107, 2001.

CAVALCANTI, M. S. B. et al. *Anais do X Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil*, 7/ 9, 39,1988.

CAVALCANTI, E.S.B.; MORAIS, S.M.; LIMA, M.A.; SANTANA, E.W.P. Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*. L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 99, 541- 544, 2004.

CICCIA, G.; COUSSIO, J. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plants. Journal of Ethnopharmacology. 72, 185-189, 2000.

CINGI, M. R.; DE ANGELIS, I.; FORTUNATI, E. Choice and standardization of test protocols in cytotoxicology: a multicentre approach. **Toxicology in vitro**, v. 5, p. 119-125, 1991.

CHAPPILL, J. A. Cladistic analysis of the Leguminosae: the development of an explicit phylogenetic hypothesis. In: Crisp, M. & Doyle, J. J. (eds.). *Advances in Legume Systematic 7: Phylogeny*. Royal Botanic Gardens, Kew. 1-9, 1995.

CHARNEY, A.N., et al. Acid-base affects on intestinal Na(+) absortion and vesicular trafficking. Am J Physiol Cell Physiol, 283, 3, sep. p. C971-979. 2002.

CHENG, S.S., HUANG, C.G.; CHEN, Y.J.; YU, J.J.; CHEN, W.J.; CHANG, S.T. Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two *Eucalyptus* species. Bioresource Technology. 100, 452–456, 2009.

CHOMNAWANG, M. T.; SURASSMO, S.; NUKOOLKARN, V. S.; GRITSANAPAN, W. Antimicrobial effects of Thai medicinal plants against acne-inducing bactéria. Journal of Ethnopharmacology, Lausanne, 101, 330-333, 2005.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. tenth ed. Approved Standard. Document M02-A10. CLSI, Wayne, PA. 2009a.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, seventh ed. Approved Standard. Document M07-A8. CLSI, Wayne, PA. 2009b.

CONFERÊNCIA INTERNACIONAL SOBRE CUIDADOS PRIMÁRIOS DE SAÚDE. Resolução Alma-Ata, set. de 1978. Cuidados primários de saúde, relatório, Alma-Ata, OMS, p. 64, 1979.

CONSOLI, R.A.G.B.; MENDES, N.M.; PEREIRA, J.P.; SANTOS, B.S.; LAMOUNIER, M.A. Influence of several plant extracts on the oviposition behaviour of *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Diptera: Culicidae) in the laboratory. Mem Inst Oswaldo Cruz. 84, 47-51, 1989.

CORRÊA, M.F.P., MELLO, G.O. & COSTA, S.S. Substâncias de origem vegetal potencialmente úteis na terapia da asma. Revista Brasileira de Farmacognosia 18, 785-797, 2008.

CÓRDULA, E.; Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Brasil, 2008.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 3. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v.3. 992 p.

COSTA, J.P. et al, Avaliação da toxicidade aguda e das alterações histopatológicas em camundongos tratados com fitol. Rev Ciênc Farm Básica Apl.,33, 3, 421-428, 2012.

COSTA-LOTUFO, L.V., et al. The cytotoxic and embryotoxic effects of kaurenoic acid, a diterpene isolated from *Copaifera langsdorffii* oleo-resin. Toxicon 40, 1231–1234. 2002.

COWAN, R.S. Caesalpinoideae. Pp. 57-64. In: R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). Advances in Legume Systematics part I. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981.

CRUZ GMG. Coloproctologia Propedêutica Geral: Livraria e Editora REVINTER LTDA., 1999.

CUELLAR , M. J.; GINER, R. M.; RECIO, M. C.; MÁÑEZ S.; RÍOS J.L. Topical anti-inflammatory activity of some Asian medicinal plants used in dermatological disorders. *Fitoterapia* 72, 221-229, 2001.

DA FONTE, N. N.; (S/D). Drogas com Antraquinonas, Departamento de Farmácia, UFPR, Paraná, 2005.

DAHARAM SHAKTU N.S.; MENON, P.K.M.. Larvicidal property of three species of genus *Agave* (Fam: Amaryllidaceae) *J. Commun. Disorders* 15, 135-137, 1983.

DAMODARAN, S.; VENKATARAMAN, S., *J. Ethnopharmacol.* 42 (1994) 19.

DAULATABAD, C. D. et al. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 65, 6, 952-3, 1988.

DEACHAPUNYA, C., POONYACHOTI, S., THONGSAARD, W., KRISHNAMRA, N., Barakol extracted from *Cassia siamea* stimulates chloride secretion in rat colon. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 314, 732–737, 2005.

DI STASI, L. C.; HIRUMA-LIMA, C. A.. Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica. 2.ed., São Paulo: Editora UNESP, 288p, 2002.

DIXIT, A. K., TIWARI, H. *P.J. Indian Chem. Soc.*, 67, 10, 864, 1990

DOYLE J. et al, Towards comprehensive phylogeny of legumes: evidence from rbcL and non- molecular data. In: Herenden PS, Bruneau A(eds) *Advances in Legume Systematics* 9. Royal Botanic Gardens, UK, pp 1-20, 2000.

DRAIZE, J.H.; WOODARD, G.; CALVERY, H.O. Method for the study of irritation and toxicity of substances applied topically to the skin and mucous membranes. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 82, 337- 90, 1944.

DUTRA, A. S. Et al. Germinação de sementes de senna siamea (Lam.) H.S. Irwin E Barneby –Caesalpinoideae. *Revista Brasileira de Sementes*, 29, 1, 160-164, 2007.

DZIEDZIC, S.Z, HUDSON, V.J.F. Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chem.*, 14, 45-51, 1984.

E. KOVATS, *Adv. Chromatogr.* 1 (1965) 229.

ELUJOBA, A.A., AJULO, O.O., IWEIBO, G.O., Chemical and biological analyses of Nigerian Cassia species for laxative activity. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 7, 1453–1457, 1989.

ELVIN-LEWIS, M. Should we be concerned about herbal remedies. *Journal of Ethnopharmacology* 75, 141 – 164, 2001.

FAI, P. B. A.; FAGANDE, S. O. Acute toxicity of *Euphorbia Kamerunia* on *Oreochromis niloticus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* ,v. 62, n. 1, p.123-131, 2005.

FALKENBERG, M.B. 2007. Quinonas. *In*: Simões, C.M.O., Schenkel E.P., Gosmann, G., Mello, J.C.P., Mentz, L.A. & Petrovick, P.R. (orgs.). *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 6. ed. Universidade-UFRGS/Ed. UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, pp. 657-683. 2007.

FATAWI, F. et al. *Fitoterapia*, 57, 4, 271, 1986.

FERNAND, E. V.; DINH, T. D.; WASHINGTON, J. S.; FAKAYODE, O. S.; LOSSO, N. J.; VAN RAVENSWAAY, O. R.; WARMER, M. I., *Talanta* 74, 896, 2008.

FERNANDES, A. Leguminosas do município de Fortaleza - Subfamília Caesalpinoideae. *Boletim da Sociedade Cearense de Agronomia* 3, 25-32, 1962.

FIDLER DP. Legal issues associated with antimicrobial drug resistance. *Emerg Infect Dis* 4: 169-177. 1998.

FIELD, M. Intestinal ion transport and the pathophysiology of diarrhea. *J Clin Invest*, 111, 7, 931-943, 2003

FIORINO, D.F., TREIT, D., MENARD, J., LERMEr, L., PHILLIPS, A.G., Is barakol anxiolytic? *Behavioural Pharmacology* 9, 375–378, 1998.

FOUNCHE, D. et al. In vitro anticancer screening of South African plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 3, 455-461. 2008.

FOURNET J. Flore illustrée des phanérogames de Guadeloupe et de Martinique (tome 1). Tartane, CIRAD–Gondwana editions, 637, 2002.

FUNARI CS, FERRO VO. Uso ético da biodiversidade brasileira: necessidade e oportunidade. *Rev Bras Farmacogn* 15: 178-182. 2005.

FURTADO, R.F., LIMA, M.G.A.; ANDRADE-NETO, M.; BEZERRA, J.N.S.; SILVA, M.G.V. Atividade larvicida de óleos essenciais contra *Aedes aegypti* L.(Diptera: Culicidae). *Neotropical Entomology*. 34, 843–847, 2005.

GANOg, W.F. Review of medical physiology. 21 ed. San Francisco: Lange Medical Books, 2003.

GARCIA, F.C.P. e Dutra, V.F. Leguminosae nos Campos Rupestres. In: CD-ROM. Simpósios, palestras e mesas redondas do 55º Congresso Nacional de Botânica. Viçosa, Alpha Mídia Assessoria Fonográfica, 2004.

GARCEZ, W. S.;GARCEZ, F. R.; SILVA, L. M. G. E.; SARMENTO, U. C. Substâncias de Origem Vegetal com Atividade Larvicida Contra *Aedes aegypti*. *Rev. Virtual Quim*. 5, 3, 363-393, 2013.

GBEASSOR, M., KOSSOU, Y., AMEGBO, K., DE SOUZA, C., KOUMAGLO, K., DENKE, A., Antimalarial effects of eight African medicinal plants. *J. Ethnopharmacol*. 25, 115–118, 1989.

GEPTS, P. W. D., BEAVIS, E. C., BRUMMER, R. C., SHOEMAKER, H. T., STALKER, N. F., WEEDEN, and N. D. Young. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. *Plant Physiology* 137, 1228–1235, 2005.

GLASS, G. B. J. *Introdução à fisiologia gastrintestinal*. São Paulo: Sarvier. 1973.

GOBBO-NETO, L. e LOPES, N.P. Plantas Mediciniais: Fatores de Influência no Conteúdo de Metabólitos Secundários. *Química Nova* 30: 374-381. 2007.

GOTO T, et all. Phytol directly activates peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) and regulates gene expression involved in lipid metabolism in PPAR α -expressing HepG2 hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 337, 2, 440-5, 2005.

GOVINDARAJAN, M. Larvicidal and repellentactivities of *Sida acuta* Burm. F. (Family: Malvaceae) against three important vector mosquitoes. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine.* 3, 691-695, 2010.

GRAHAM, P. H., and C. P. Vance. Legumes: importance and constraints to greater use. *Plant Physiol.* 131, 872 – 877, 2003.

GUERRA, P. M.; NODARI, O. R. Biodiversidade: aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: SIMÕES, M. O. et al. *Farmacognosia: da planta ao medicamento*. 3. ed. Porto Alegre: UFRGS; Florianópolis: UFSC, 15, 2001.

GUIMARÃES, V.P., SILVA, I.G.; SILVA, H.H.G.; ROCHA, C. Atividade larvicida do extrato bruto etanólico da casca do caule de *Magonia pubescens* St. Hil. sobre *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) (Diptera, Culicidae). *Rev. Patol. Trop.* 30, 243-249, 2001.

GUPTA, D.; SINGH, J. Flavonoid glycosides from *Cassia alata*. *Phytochemistry*, 30, 8, 2761-2763, 1991.

GUR, S.; TURGUT-BALIK, D.; GUR, N. Antimicrobial activities and some fatty acids of turmeric, ginger root and linseed used in the treatment of infectious diseases. *World Journal of Agricultural Sciences*, 2, 439-442, 2006.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Textbook of medical physiology. 11 ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2006.

HAMBURGER, M.; HOSTETTMANN, K. Bioactivity in plants: the link between phytochemistry and medicine. **Phytochemistry**, v. 30, p. 3864-3874, 1991.

HARBORNE, J.B. *Ökologische biochemie: eine einföhrung*. Spectrum, Heidelberg. 1995.

HARBONE, J. B., *Phytochemical Methods: A guide to modern techniques of plants analysis*. Nova York: Chapman and Hall, 1998.

HEIDEMANN A, MILTENBURGER, H.G, MENGES, U. The genotoxicity status of senna. *Pharmacology* 47 (Suppl. 1), 178-186, 1993.

HIETALA, P., MARVOLA, M., PARVIAINEN, T., LAINONEN, H., Laxative potency and acute toxicity of some anthraquinone derivatives, senna extracts and fractions of senna extracts. *Pharmacol Toxicol* 61, 153-156, 1987.

HOOGERWERF, W.; PASRICHA, P.J. Agentes usados para o controle da acidez gástrica e no tratamento de úlceras pépticas e da doença do refluxo gastroesofágico. In: Goodman & Gilman – As bases farmacológicas da terapêutica, Joel Hardman e Lee E. Limbird, 10 ed. , Rio de Janeiro, 2003.

HUOVINEN P, CARS O. Control of antimicrobial resistance: time for action. *Braz Med J* 317: 613-615. 1998.

HUYCKE MM, SAHM DF, GILMORE MS. Multiple-drug resistant Enterococci: The nature of the problem and the agenda for the future. *Emerg Infect Dis* 4: 239- 249. 1998.

IBRAHIM, D.; OSMAN, J.H. Antimicrobial activity of *Cassia alata* from Malaysia. *Ethnopharmacology* 45, 151-156. 1995.

INAMORI, Y. et al. *Chem. Pharm. Buli*, 32, 1, 213-8, 1984.

INGKANINAN, K., IJZERMAN, A.P., VERPOORTE, R., Luteolin, an adenosine A1-active compound from *Senna siamea*. *Journal of Natural Products* 63, 315–317, 2000.

IRWIN, H.S. e BARNEBY, R.C., Tribe Cassieae Bronn. Pp. 97-106. In: R.M. Polhill & P. H. Raven (eds.). *Advances in legume systematics. Part 1*, Kew, The Royal Botanic Gardens, 1981.

IRWIN, H.S. e BARNEBY, R.C. 1982. The American Cassinae, a synoptical revision of Leguminosae, Tribe Cassieae, subtribe Cassinae in the New World. *Memoires of the New York Botanical Garden* 35(1-2), 1-918, 1982.

ISHIDA, M. et al. *Toyama-ken Yakuji Kenkyusho Nenpo*, 16, 86-92, 1989.

IZZO, A. A.; SAUTEBIN, L.; BORRELLI, F.; LONGO, R., CAPASSO, F. *European Journal of Pharmacology*, 368, 43-48, 1999.

JANG, Y. S.; JEON, J. H.; LEE, H. S. Atividade larvicida Mosquito da componente ativo derivado de *Chamaecyparis obtusa* deixa contra três espécies de mosquitos. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 21, 4, 400, 2005.

JAFRI, M.A., SUBHANI, M.J.; JAVED, K.; SINGH, S. Hepatoprotective activity of leaves of *Cassia occidentalis* against paracetamol and ethyl alcohol intoxication in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 66, 355-361, 1999.

JENSEN, M. *Trees Commonly Cultivated in Southeast Asia - an illustrated field guide*. Bangkok, Thailand: FAO, 93, 1995.

JOHANSON, J. F. Review of the treatment options for chronic constipation. *Gen Med*, 9, 2, 25, 2007.

JOSHI, T.; DASS, A.; PANDEY, S.; SHUKLA, S.; *Phytochemistry* 1985, 24, 3073; Dass, A.; Joshi, T.; Shukla, S.; *Phytochemistry* 1984, 23, 2689.

JUNIOR, F. V.; PINTO, A. C. PLANTAS MEDICINAIS: CURA SEGURA? *Quim. Nova*, 28, 3, 519-528, 2005.

KALA, S.M.J, Balasubramanian T, Tresina soris P and Mohan VR. *Int J Chem Tech Res.* 3,1534-1537, 2011.

KAUR, G., ALAM, M., JABBAR, Z., JAVED, K., ATHAR, M., Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *J. Ethnopharmacol.* 108, 340–348. 2006.

KAUR, G., ALAM, M.S., JABBER, Z.; JAVED, K.; ATHAR, M. Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea* flowers. *Journal of Ethnopharmacology.* 108, 340-348, 2006.

KEAN EA, GUTMAN M, SINGER TP. Studies on the respiratory chain-linked nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase. XXII – rhein, a competitive inhibitor of the dehydrogenase. *J Biol Chem.* 246, 8, 2346-53, 1971.

KIM HL, CAMP BJ, GRIGSBY RD. Isolation of n-methylmorpholine from the seeds of *Cassia occidentalis* (Coffee Senna). *J Agric Food Chem.* 19, 1, 198-9, 1971.

KIRAN, S.R.; BHAVANI, K.; DEVI, P.S.; RAO, B.R.R.; REDDY, K.J. Composition and larvicidal activity of leaves and stem essential oils of DC against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *Bioresource Technology.* 97, 2481– 2484, 2006.

KHARE, N. et al. *Planta Med.* (Suppl.), 76-80, 1980.

KITANAKA,S.,TAKIDO, M. *Yakugaku Zasshi*, 106, 4, 302-6, 1986.

KITANAKA, S.; OGATA, K.; TAKIDO, M.; *Chem. Pharm. Bull.* 37, 2441, 1989.

KITANAKA, S.; TAKIDO, M.; *Chem. Pharm. Bull.* 42, 2588; Kitanaka, 1994.

KLAASSEN, C.D.; AMDUR, M.A.; DOULL, J. Casarett and Doull's: toxicology the basic science of poisons, 5^o ed. New York: McGraw Hill, 1996.

KNUDSON, D.M.; CHANEY, W.R.; REYNOSO, F.A. Fuelwood and charcoal research in the Dominican Republic—results of the wood fuel development project. West Lafayette, En: Purdue University, Department of Forestry and Natural Resources. 181 p, 1988.

KOYAMA, J., MORITA, I., TAGAHARA, K., OGATA, M., MUKAINAKA, T., TOKUDA, H., NISHINO, H., Inhibitory effects of anthraquinones and bianthraquinones on Epstein-Barr virus activation. *Cancer Letters* 170, 15–18, 2001.

KRAMBECK, R. et al. *Trib. Farm.*, 53, 1, 1-11, 1985.

KUETE, V.; KAMGA, J.; SANDJO, L. P.; NGAMENI, B.; POUMALE, H. M. P.;

KUO, Y-H.; LU, P-H.; WEIN, Y-S.; *J. Nat. Prod.* 65, 1165, 2002.

KUPITAYANANT, P.; GRITSANAPAN, W.; WUTHI-UDOMLERT, M. Antifungal activity of *Cassia alata* leaf extract. *Thai Journal of Pharmaceutical Sciences.* 25, 33, 2001.

LAITINEN, L., TAKALA, E., VUORELA, H., VUOREL, P. A A, KAUKONEN, A. M., MARVOLA, M., Anthranoid laxatives influence the absorption of poorly permeable drugs in human intestinal cell culture model (Caco-2) *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 66, 135–145, 2007.

LARREY D, PAGEAUX GP: Hepatotoxicity of herbal remedies and mushrooms. *Semin Liver Dis* 15:183, 1995

LEITE, A. C. R. M. Efeitos antiinflamatórios e antinociceptivos do fitol, um ativador de NADPH oxidase, e tadalafil, um inibidor de 5-fosfodiesterase, em modelos experimentais. 2010. 120. Tese (doutorado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas. Fortaleza-Ceará. 2010.

LEMLI, J. Metabolism of Sennosides an Overview *Pharmacology* 36, 126-128, 1988.

LEWIS, G. Legumes of Bahia. Kew: Royal Botanic Gardens, 369, 1987.

LEWIS, G.P. e OWEN, P.E., Legumes of the Ilha de Maracá. Royal Botanic Gardens, Kew, 1989.

LEWIS, G.; Schrine, B.; Mackinder, B. & Lock, M.. Legumes of the world. Royal Botanic Gardens, Kew, 577, 2005.

LIBORIO, A. B., et al. Impact of chloride balance in acidosis control: the Stewart approach in hemodialysis critically ill patients. *J Crit Care*, 21, 4, 333-8. 2006.

LIMA, H. C. de; CORREIA, C. M. B.; FARIAS, D. S. Leguminosae. In: Lima, M. P. A. de; Guedes- Bruni, R. (Org.). Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo – RJ; Aspectos Florísticos das Espécies Vasculares. Rio de Janeiro: Jardim Botânico. 1, 167,1994.

LIMA, J.E.G. Os gêneros *Cassia* L. e *Senna* Mill. (Leguminosae: Caesalpinioideae: Cassieae) no estado de Pernambuco-Brasil. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 1999.

LIN, M.; ANDERSON, H.; FLAVIN, M.T.; PAI, Y.S. In vitro anti-HIV activity of bioflavonoids isolated from *rhus* *sucedanea* and *garcinia* *multiflora*. *Journal Natural Products*, vol. 60 884-8. 1997.

LITTLE, E.L., Jr. Common fuelwood crops: a handbook for their identification. Morgantown, WV: Communi-Tech Associates. 354, 1983.

LITTLE, E.L., Jr.; WADSWORTH, F.W. Common trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. *Agric. Handb.* 249. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture. 548, 1964.

LOOMIS, M.D.; HAYES, A.W. Loomis's essentials of toxicology. 4° ed. California: Academic Press, 1996.

LÓPEZ, C. A. A. Considerações gerais sobre plantas medicinais. *Ambiente: Gestão e Desenvolvimento*, 1,19-27, 2006.

LORENZI, H. Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais. 3.ed. Nova Odessa: Plantarum, 608, 2000.

LUCKOW L., A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. In: Klitgaard BB, Bruneau A (eds) Advances in Legume Systematics 10, High Level Systematics. Royal Botanic Gardens, UK, pp 197- 220, 2003.

LU, T.S.; YI, Y.H.; MAO, S.L.; ZHOU, D.Z.; XU, Q.Z.; TANG, H.F.; ZHANG, S.Y. A new chromone glycoside from *Cassia siamea* Lam. Chinese Chemical Letters. 12, 703-704, 2001.

MACCARRA, M. E. The uses and abuses of laxatives. Can Med Assoc J, 126, 7, 780-782, 1982.

MACIEL et al., Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. Quim. Nova, 25, 3, 429-438, 2002.

MACHADO, M.M, Perfil fitoquímico e avaliação dos principais efeitos biológicos e imunológicos *In vitro* da *Euphorbia tirucalli* L. 2007. 105. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul. 2007.

MAGALHÃES, L.A.M., LIMA, M.P.; MARQUES, M.O.M.; FACANALI, R.; PINTO, A.C.S.; TADEI, W.P. Chemical composition and larvicidal activity against *Aedes aegypti* larvae of essential oils from four *Guarea* species. Molecules. 15. 5734-5741, 2010.

MAGALHÃES, L. et al., Atividade citotóxica da fração hidroalcoólica das folhas de *Cassia grandis* (FABACEAE), 52º Congresso Brasileiro de Química. 2012.

MAKINDE, A. A.; IGOLI, J. O.; TA'AMA, L.; SHAIBU, S. J.; GARBA, A. Antimicrobial activity of *Cassia alata*. African Journal of Biotechnology, Pretoria, v. 6, n. 13, p. 1509-1510, 2007.

MALHOTRA, S.; MISRA, K.; *Phytochemistry* 1982, 21, 197

MARAZZI, B., Endress, P.K., Queiroz, L.P. & Conti, E. Phylogenetic relationships within Senna (Leguminosae, Cassinae) based on three chloroplast regions: patterns in the evolution of floral symmetry and extrafloral nectaries. *American Journal of Botany* 93: 288-303, 2006.

MARÍN, F. R.; FRUTOS, M. J.; PEREZ-ALVAREZ, J. A.; MARTINEZSANCHES, F.; DEL RÍO, J.A. Flavonoids as nutraceuticals related antioxidant properties and their role on ascorbic acid preservation. In: ATTA-UR-RAHMAN (Ed) *Studies in natural products Chemistry V26*. Elsevier Science BV. 2002

MÁRQUEZ LR. Propriedades de la fibra dietética. In: *La fibra terapéutica*. Lab. Madaus, 25-43, 1998.

MARTIN, C. A., ALMEIDA V. V., RUIZ,R., VISENTAINER, J. E. L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E; VISENTAINER, J. V., Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. *Revista de nutrição*, 6, 761-770, 2006.

MARTINS, R. T. et al. Receptores opioides até o contexto atual. **Revista Dor**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 75-9, jan/mar. 2012.

MASCOLO N, Mereto E, Borrelli F, Orsi P, Sini D, Izzo A, Massa B, Boggio M, Capasso F. Does senna extract promote growth of aberrant crypt foci and malignant tumors in rat colon? *Dig Dis Sci* 44, 2226-2230, 1999.

MBATCHI, S.F., MBATCHI, B., BANZOUZI, J.T., BANSIMBA, T., NSONDE-NTANDOU, G.F., OUAMBA, J.-M., BERRY, A., BENOIT-VICA, L.F. In vitro antiplasmodial activity of 18 plants used in Congo Brazzaville traditional medicine. *J. Ethnopharmacol.* 104, 168–174, 2006.

MCGINTY D, LETIZIA CS, API AM. Fragrance material review on phytol. *Food Chem Toxicol.* 48, 3, 59-63, 2010.

MCKEY, D. 1994. Legumes and nitrogen: the evolutionary ecology of a nitrogen-demanding lifestyle. Pages 211–228 in *Advances in Legume Systematics*, part 5, the nitrogen factor (J. I. Sprent and D. McKey, eds.). Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

MELO-PINNA, G. F. A.; Neiva, M. S. M.; Barbosa, D. C. A.; Rev. Bras. Bot., 375, 1999.

MELO, M.C.B., TORRES, M.R.F., GUIMARÃES, E.V., FIGUEIREDO, R.C.P., PENNA, F.J. Constipação Intestinal. Revista de Medicina de Minas Gerais, 13, 35-43, 2003.

MEHTA, P. J., PARMAR, P. H., VADIA, S. H., PATEL, M. K., TRIPATHI, C. B. *In-vitro* antioxidant and *in-vivo* anti-inflammatory activities of aerial parts of Cassia species. Arabian Journal of Chemistry. 2013 – verificar a referencia

MENDONÇA, R.F.W, MENEZES, F.S. Estudo da utilização de plantas medicinais pela população da Ilha GrandeRJ. Rev Bras Farmacogn 13(Supl), 55-58, 2003.

MENGS U, Grimminger W, Krumbiegel G, Schuler D, Silber W, Volkner W. No clastogenic activity of a senna extract in the mouse micronucleus assay. Mutat Res 444, 421-426, 1999.

MENGUE S. S, MENTZ, L.A, SCHENKEL, E.P., Uso de plantas medicinais na gravidez. Rev Bras Farmacogn 11, 21-35, 2001.

MERETO E, Ghia M, Brambilla G. Evaluation of the potential carcinogenic activity of Senna and Cascara glycosides for the rat colon. Cancer Lett 101, 79-83, 1996.

METZ H. Thin-layer chromatography for rapid assays of enzymic steroid transformations. *Naturwissenschaften*. 48, 569-570, 1961.

MEYERS, N. Tropical moist forests; over-exploited and under-utilized? Forest Ecology and Management 6, 59-79, 1983.

MERKEN, H. M., BEECHER, G. R. Measurement of food flavonoids by high-performance liquid chromatography: a review. Journal Agricultural Food Chemistry. 48, 577-599, 2000.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/politica_nacional_fitoterapicos.pdf. Acesso em: 04

de julho de 2013. MACIEL, et all; *Phytochem.Pharmacol. II Ser. Recent Prog. Med. Plants* 2002, 8, 460.

MIYAZAWA, M.; WATANABE, H.; KAMEOKA, H. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a *p*-methane skeleton. *Journal of Agriculture Food Chemical*, v. 45, n. 3, p. 677-679, 1997.

MÖLLER AJR. Microbiological examination of root canals and periapical tissues of human teeth. *Odontol. Tidskr.*, 74: 1-38. 1966.

MORAIS, S.M., FACUNDO, V.A.; BERTINI, L.M.; CAVALCANTI, E.S.B.; ANJOS-JUNIOR, J.F.; FERREIRA, S.A.; BRITO, E.S.; SOUZA-NETO, M.A. Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Piper* species. *Biochemical Systematics and Ecology*. 35, 670–675, 2007.

MORAIS MB, TAHAN S, SPERIDIÃO PGL, NETO UF. Constipação em Pediatria. *Pediatria Moderna* 1999 out; Volume XXXV, edição 10.

MORI H, YOSHIMI N, IWATA H, MORI Y, HARA A, TANAKA T, KAWAI K. Carcinogenicity of naturally occurring 1-hydroxyanthraquinone in rats: induction of large bowel, liver and stomach neoplasms. *Carcinogenesis* 11, 799-802, 1990.

MORIYAMA, H.; IIZUKA, T.; NAGAI, M.; MURATA, Y.;. *Fitoterapia* 74, 425. 2003.

MORIYAMA, H.; IIZUKA, T.; NAGAI, M.; TERAZONO, M.; HOSHI, K., *Nat. Med.* 56 (2002)178.

MORGAN, R. *Enciclopédia das ervas e plantas medicinais*. São Paulo: Hemus, 1994

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods* 16, 55–63. 1983.

MOUSSU R. L'intoxication par les graines de *Cassia occidentalis* L. est due a une tox-albumine. *C R Seances Soc Biol Fil.* 92, 862-3, 1925.

MUELLER, B. M. et al. *Planta Med.*, 55, 6, 536-9, 1989

MUKHOPADHYAY MJ, Saha A, Dutta A, DE BY, Mukherjee A. Genotoxicity of sennosides on the bone marrow cells of mice. *Food Chem Toxicol* 36, 937-940, 1998.

MUYIBI SA, OLORODE BR, ONYAYILI PA, OSUNKWO UA, MUHAMMAD BY, AJAGBONNA OP. Haematological and histopathological changes of *Cassia occidentalis* leaf extract in rats. *Nig J Nat Prod Med.* 4, 48-51, 2000.

NAKAJIMA, K. et al. *J. Pharm. Pharmacol*, 37, 10, 703-6, 1985.

NASCIMENTO G.G.F., Locatelli J., Freitas P.C., Silva G.L. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31, 4, 247-256, 2000.

NASCIMENTO, M.C. *Medicamentos: ameaça ou apoio à saúde?* Rio de Janeiro: Vieira e Lent, 2003. 197p.

NAVARRO, D.M.A.F., et al., The potential attractant or repellent effects of different water types on oviposition in *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *J. Appl. Entomol.* 127,46–50, 2003.

NEU, H.C. Seleção de um fármaco antibacteriano. In: BRODY, T.H; LARNER, J.; MINNEMAN, K.P; NEU, HC. *Farmacologia Humana: Da molécula à clínica.* 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. P.620-624.

NGOH, S. P.; CHOO, L. E. W.; PANG, F. Y.; YAN HUANG; KINI M. R.; HO, S. H. Insecticidal and repellent properties of nine volatile constituents of essential oils against the American cockroach (*Periplaneta Americana* L.). ***Pesticide Science***, 54, 3, 261-268, 1998.

NOGUEIRA, L. G.; *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Juiz de Fora, Brasil, 2009.

NOGUEIRA, L.G., *Senna macranthera*: constituição química e atividades biológicas. 2009. 122. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais.

NSONDE NTANDOU, G.F., BANZOUZI, J.T., MBATCHIA, B., ELION-ITOU, R.D.G., ETOU-OSSIBI, A.W., RAMOS, S., BENOIT-VICALE, F., ABENA, A.A., OUAMBA, J.M. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cassia siamea* Lam. Stem bark extracts. *J. Ethnopharmacol.* 127, 108–111, 2010.

NSONDE-NTANDOU, G.F., NDOUNGA, M., OUAMBA, J.M., GBEASSOR, M., ETOU-OSSIBI, A., NTOUMI, F., ABENA, A.A. Ethnobotanical survey, chemical screening and effective treatment of certain plants used in traditional medicine to treat malaria in Brazzaville. *Phytothérapie* 1, 13–18, 2005.

NTANDOU, G. F., et al. Analgesic and anti-inflammatory effects of *Cassia siamea* Lam. Stem bark extracts, *Journal of Ethnopharmacology* 127, 108–111. 2010.

OECD – Organisation for Economic Co-operation and Development, Guideline 423: Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. 2011.

OGUNTI, O.E.; ELUJOBA, A.A., *Fitoterapia* 64 (1993) 437.

OGURA, M. et al. *Lloydia (Cinci)*, 4, 4, 347-51, 1977.

OKEKE IN, LAMIKANRA A, EDELMAN R. Socioeconomic and behavioral factors leading to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerg Infect Dis* 5: 18-27. 1999.

ORDOÑEZ, M. G.; GOVÍN, E. S.; BLANCO, M. A. G. Actividad antimicrobiana de *Senna alata* L. *R. Cub. Plant. Med.*, v. 9, n. 1, p. 0-0, 2004.

ORDOÑEZ, M.G.; GOVÍN, E.S.; BLANCO, M.A.G. Actividad antimicrobiana de *Senna alata* L. *R. Cub. Plant. Med.*, 9, 63-72, 2004.

OLIVEIRA RAG, et al. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. Rev Bras Farmacogn 16: 77-82. 2006.

OWOYALE, J. A.; OLATUNJI, G. A.; OGUNTOYE, S. O. Antifungal and Antibacterial Activities of an Alcoholic Extract of *Senna alata* Leaves. Journal Applied Science Environmental, 9, 3, 105-107, 2005.

PALANICHAMY, S.; NAGARAJAN, S., Antifungal activity of Cassia alata leaf extract. J. Ethnopharmacol. 29, 337, 1990.

PALANICHAMY, S., NAGARAJAN, S. *Fitoterapia*, 61, 1, 44-7, 1990.

PALANICHAMY, S.; AMALA, B.; NAGARAJAN, S.; *FITOTERAPIA*, 62, 249. 1991.

PAREKH, J.; CHANDA, S.V. In vitro antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. Turk J. Biol., 31, 53-58, 2007.

PARI, L.; LATHA, M. Effect of *Cassia auriculata* flower on blood sugar levels, serum and tissue lipids in streptozotocin diabetic rats. Singapore Medicine Journal. 43, 617-621, 2002.

PERON, A. P., MARCOS, M. C., CARDOSO, S. C., VINCENTINE, V. E. P. Avaliação do potencial citotóxico dos chás de *camellia sinensis* L. e *cassia angustifolia* Vahl em sistema teste vegetal. Arq. Ciênc. Saúde Unipar, Umuarama, 12, 1, 51-54. 2008.

PAVANANUNDT, P; JIRAUNGKOORSKUL, K.; KOSAI, P.; JIRAUNGKOORSKUL, W. Larvicidal properties of cassia siamea leaf against *Aedes aegypti* larvae, International Journal of Modern Agriculture. 2, 1, 2013.

PEÑA, C.E.; CARTER, D.E.; AYALA-FIERRO, F. Toxicología Ambiental: Evaluación de riesgos y restauración ambiental, 2001. Distributed on the Internet via Southwest Hazardous Waste Program website at: <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/>. Acesso em 26 de junho de 2013.

PEREIRA, R. C, OLIVEIRA, M.T.R, LEMOS, G.C.S, Plantas utilizadas como medicinais no município de Campos de Goytacazes - RJ. Rev Bras Farmacogn 14 (Supl.1), 37-40, 2004.

PIDDOCK LJV, RICCI V, MCLAREN I, GRIGGS DJ. Role of mutation in the *gyrA* and *parC* genes of nalidixic-acidresistant *Salmonella* serotypes isolated from animals in United Kingdom. J Antimicrobial Chemother 41: 635-641. 1998.

PIEME, C. A. et al. Evaluation of acute and subacute toxicities of aqueous ethanolic extract of leaves of *Senna alata* (L.) Roxb (Caesalpiniaceae). Afric. J. Biotechnol., 5, 3, 283-289, 2006.

PITASAWAT, B., CHAMPAKAEW, D.; CHOOCHOTE, W.; JITPAKDI, A.; CHAITHONG, U.; KANJANAPOTHI, D.; RATTANACHANPICHAI, E.; TIPPAWANGKOSOL, P.; RIYONG, D.; TUETUN, B.; CHAIYASIT, D. Aromatic plant derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. Fitoterapia. 78, 205–210, 2007.

PITTET D. Promotion of hand hygiene: magic, hype, or scientific challenge? Infect Control Hosp Epidemiol 23: 118-119. 2002.

PIVA, J. P.; GARCIA, P. C. R. e MARTHA, V. F. Distúrbio do equilíbrio ácido básico. Jornal de Pediatria, 75, 2, 234-243, 1999.

PHELPS CE. Bug/drug resistance: sometimes less is more. Med Care 27: 194-203. 1989

PLANTAS E ERVAS MEDICINAIS E FITOTERÁPICOS – PLANTAMED. Disponível em: <http://www.plantamed.com.br/plantaservas/especies/Senna_alata.htm> Acesso em: 10 de julho 2013.

PRAKASH, D et al. Journal of the Science of Food and Agriculture, 58, 1, 143-4, 1992

PRANCE, G. T. Floristic inventory of the tropics: where do we stand. Ann. Missouri Bot. Gard., [S.l.], 64, 559-684, 1977.

PRASAD, M., et al. Ammonia inhibits Camp-regulated intestinal Cl⁻ transport. Asymmetric effects of apical and basolateral exposure and implications for epithelial barrier function. J Clin Invest, 96, 5, 2142-51, 1995.

PRASHAR, A. HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*. 63, 569-575, 2003.

PRINCIPE, P.P. The value of biological diversity among medicinal plants. Paris, Environment Directorate, Organization for Economic Cooperation and Development, 1985.

QUEIROZ, L.P. 2009. Leguminosas da caatinga. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.

QUIGNARD EL et al. Screening of plants found in Amazonas state for lethality towards brine shrimp. *Acta Amazon.*; 33:(1) 93-104. 2003.

RAJESWARI, G.; MURUGAN, M. ; Mohan, V.R. GC-MS analysis of bioactive components of *Hugonia mystax* L. (Linaceae). *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 3, 4, 301, 2012.

RANG, H.P., DALE, M.M. e RITTER, J. M., *Farmacologia*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogn S. A, 2001.

RANG, H.P; DALE, M.M; RITTER, J.M. *Farmacologia*. 4ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koohan, 2001. P. 577-593.

RAO VSN, SANTOS FA, SOBREIRA TT, SOUZA MF, MELO CL, SILVEIRA ER. Investigations on the gastroprotective and antidiarrhoeal properties of ternatin, a tetramethoxyflavone from *Egletes viscose*. *Planta Med* 63, 146-149, 1997.

RATTAN A, KALIA A, AHMAD N. Multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*: Molecular perspectives. *Emerg Infec Dis* 4: 195-209. 1998

RAVEN, P. H., EVERT, R. F., CURTIS, H. *Biologia Vegetal*. 7ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 906 p. 2007.

RITTER, M. R., SOBIERAJSKI, G.R, SCHENKEL, E.P, MENTH, L.A. Plantas usadas como medicinais no município de Ipê, RS, Brasil. Rev Bras Farmacogn 12, 51-62, 1985.

RODRIGUES, R.S., Flores, A.S., Miotto, S.T.S & Baptista, L.R.M. O gênero *Senna* (Leguminosae, Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. Acta Botanica Brasilica 19, 1-16, 2005.

RODRIGUES, A. G.; SANTOS, M. G.; AMARAL, A. C. F. Políticas públicas em plantas medicinais e fitoterápicos. In: A fitoterapia no SUS e o programa de pesquisas de plantas medicinais da central de medicamentos; 2006, Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica, Brasília: Ministério da Saúde. 148 p. 2006.

RODRIGUES, I.M.C., SOUZA FILHO, A.P.S. & FERREIRA, F.A. Estudo fitoquímico de *Senna alata* por duas metodologias. Planta Daninha 27: 507-513, 2009b.

RODRIGUES, E.; DUARTE-ALMEIDA, J. M.; PIRES, J. M. Perfil farmacológico e fitoquímico de plantas indicadas pelos caboclos do Parque Nacional do Jaú (AM) como potenciais analgésicas. Parte I. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 20, n. 6, p. 981-991, dez. 2010.

ROBERTSON, E. A. H.; CARTWRIGHT, R. A.; OLDSCHOOL, M. Phenolic substance of manufactured tea. I. Fractionation and paper chromatography of Water-soluble substances. Journal of the Science of Food and Agriculture 8. 72-80. 1956.

ROGERO, S. O.; LUGÃO, A. B.; IKEDA, T. I.; CRUZ, A. S. Teste in vitro de Citotoxicidade: Estudo Comparativo entre Duas Metodologias. **Materials Research**, v. 6, n. 3, p.317-320, 2003.

SAIKIA D, PARIHAR S, CHANDA D, OJHA S, KUMAR JK, CHANOTIYA CS, SHANKER K, NEGI AS. Antitubercular potential of some semisynthetic analogues of phytol. Bioorg Med Chem Lett. 20, 2, 508-12, 2010.

SAKAGAMI Y, IINUMA M, PIYASENA KGNP, DHARMARATME HRW. Anti-MRSA activity of sophoraflavanone G and synergism with other antibacterial agents. Lett. Appl. Microbiol., 27: 98-100. 1998.

SAKAGAMI Y., KAJAMURA K. Bactericidal activities of disinfectants against vancomycin – resistant Enterococci. Journal of Hospital Infection, 50, 2, 140-144, 2002.

SAKAGAMI Y, Kajamura K. Bactericidal activities of disinfectants against vancomycin-resistant Enterococci. J Hosp Infect 56: 140-144. 2006.

SAKULPANICH, A.; GRITSANAPAN, W. Laxative anthraquinone contents in fresh and cooked *Senna siamea* leaves. Southeast Asian Journal of Tropical medicine and Public Health. 40, 835- 839, 2009.

SALAHUDDIN, M.; JALAPURE, S.S. Evaluation of antidiabetic activity of *Cassia glauca* Lam. leaf in streptozotocin induced diabetic rats. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics. 9, 29-33, 2010.

SALES, A. Síntese, caracterização e análise térmica dos sais de lítio, sódio e potássio do ácido palmítico e do seu éster etílico. Dissertação (mestrado), 88pag, Instituto de química de São Carlos – São Paulo, 2006.

SAMY, R.P.; IGNACIMUTHU, S. Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by tribals in Western Ghats of India. Journal of Ethnopharmacology 69, 63-71, 2000.

SAMY, R. P.; IGNACIMUTHU, S.; J. Ethnopharmacol., 69, 63, 2000.

SANDES, A.R.R.; BLASI, G. Biodiversidade química e genética. Biotec. Ciê. Des. 13, 28-37, 2000.

SANDNES D, Johansen T, Teien G, Ulsaker G. Mutagenicity of crude senna and senna glycosides in *Salmonella typhimurium*. Pharmacol Toxicol 71, 165- 172, 1992.

SANTOS, J. C. M., Constipação intestinal. Rev bras coloproct, 25, 1, 79-93, 2005.

SANTOS, J. C. M., Laxantes e purgativos: o paciente e a constipação intestinal. Ver bras Coloproct, 23, 2, 130-134, 2003.

SARTORATTO, A.; MACHADO, A. L. M.; DELARMELINA, C.; FIGUEIRA, G. M.; DUARTE, M. C. T.; REHDER, V. L. G. Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. Brazilian Journal Microbiology, 35, 4, 275-280, 2004.

SATHANTRIPHOP, S., PAEPORN, P; SUPAPHATHOM, K. Detection of insecticides resistance status in *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* to four major groups of insecticides. Tropical Biomedicine. 23, 97-101, 2006.

SAROYA, A.S. Glossary of Phytochemicals. Buziness Horizons, New Delhi. 2006

SCHAEFER DC; CHESKIN LJ. Constipation in the elderly. Am Fam Phy, 58, 907-14, 1998.

SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; ATHAYDE, M.L. Saponinas In: SIMÕES, C.M.O. (Ed.) Farmacognosia da planta ao medicamento. 2º ed. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/ Editora da UFSC, p. 181-196, 2000.

SCHMITZ, D.G.; DENTON J. H. Senna bean toxicity in cattle. Southwestern Vet. 30: 165-170, 1977

SCHUCK, V. J. A. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Cymbopogon citratus*. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. 37, 1, 2001.

SHAFIULLAH, M., PARVEEN, M., KAMIL, M., ILLYAS, M. A new isflavone C-glycoside from *Cassia siamea*. Fitoterapia 65, 339– 341, 1995.

SHIOMORI T, MIYAMOTO H, MAKASHIMA K, YOSHIDA M, FUJIYOSHI T, UDAKA T, INABA T, HIRAKI N. Evaluation of bedmaking-related airborne and surface methicillinresistant *Staphylococcus aureus* contamination. J Hosp Infect 50: 30-35. 2002.

SIEGERS CP, Von Hertzberg-Lottin E, Otte M, Schneider B. Anthranoid laxative abuse – a risk for colorectal cancer? *Gut* 34, 1099-1101, 1993.

SILVA, M.J & Tozzi, A.M.G.A. Leguminosae- subfamília Caesalpinioideae. In: M.M.R.F. Melo, F. Barros, S.A.C. Chiea, M. Kirizawa, S.L. JungMendaçolli & M.G.M. Wanderley (eds.). *Flora Fanerogâmica da Ilha do Cardoso*, v.15, Instituto de Botânica, Brasil. pp. 17-41.60, 531-550, 2010.

SILVA, J. K.; ANDRADE, E. H.; KATO, M. J.; CARREIRA, L. M.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. Capacidade antioxidante, atividade larvicida e antifúngica de óleos essenciais e extratos de *Piper krukoffii*. *Nat. Prod. Commun.* 6,9, 1361, 2011.

SIMÕES, C. M. O., et al. *Farmacognosia da planta ao medicamento*. Florianópolis: UFSC, v.2, 2000.

SINITOX, Casos, Óbitos e Letalidade de Intoxicação Humana por Agente e por Região. Brasil, 2010. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/sinitox_novo/media/b3.pdf>. Acesso em: 26 junho 2013.

SLEISENGER MH, FELDMAN M, SCHARSCHMIDT BF. *Gastrointestinal an liver disease*. 6th edition. WB Saunders Company; 1998. p.174-95.

SONOWA, M. M.; KÖNIG, W. A. Constituents of the essential oil of *Cyperus alopecuroides*. *Phytochemistry*, 56, 4, 321-325, 2001.

SOUZA, V.C.; BORTOLUZZI, R.L.C. 2013. *Senna* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB83691>)

SERRANO, M.A.R., PIVATTO, M., FRANCISCO, W., DANUELLO, A., REGASINI, L.O., LOPES, E.M.C., LOPES, M.N., YOUNG, M.C.M. & BOLZANI, V.S. Acetylcholinesterase Inhibitory Pyridine Alkaloids of the Leaves of *Senna multijuga*. In: *Journal of Natural Products* 73,482-484, 2009.

SMITH, Y. R. A. Determination of chemical composition of *Senna siamea* (Cassia Leaves). Pakistan Journal of Scientific Information. 8, 2, 119-121, 2009.

SUKMA, M., CHAICHANTIPYUTH, C., MURAKAMI, Y., TOHDA, M., MATSUMOTO, K., WATANABE, H., CNS inhibitory effects of barakol, a constituent of *Cassia siamea* Lamk. Journal of Ethnopharmacology 83, 87–94, 2002.

SPRENT, J. I. Nodulation in legumes. Royal Botanic Gardens, Kew, UK. SUKMA, M., CHAICHANTIPYUTH, C., MURAKAMI, Y., TOHDA, M., MATSUMOTO, K., THAMLIKITKUL V, BUNYAPRAPHATSARA N, DECHATIWONGSE T, THEERAPONG S, CHANTRAKUL C, THANAVEERASUWAN T, et al. J Med Assoc Thai 1990; 73:217. 2001.

STANGARLIN RJ, SCHWAN-ESTRADA KRF, NOZAKI MH. Plantas medicinais e controles alternativos de fitopatógenos. Biotecnol Cienc Des 11: 16-21. 1999.

SWEENEY MA. Constipation. Diagnosis and treatment. Home care provider, 2, 251-5, 1997.

TANAKA JCA, SILVA CC, DIAS FILHO BP, NAKAMURA CV, CARVALHO JE, FOGGIO AA. Luehea chemical Constituents divaricata Mart. (Tiliaceae). Quim. Nova, 28, 5, 834-837. 2005.

THAMLIKITKUL V, BUNYAPRAPHATSARA N, DECHATIWONGSE T, THEERAPONG S, CHANTRAKUL C, THANAVEERASUWAN T, ET AL. J Med Assoc Thai, 73, 217, 1990.

THONGSAARD, W., DEACHAPUNYA, C., PONGSAKORN, S., BOYD, E. A., BENNETT, G. W., MARSDEN, C. A. Barakol: A potential anxiolytic extracted from *Cassia siamea*. Pharmacology Biochemistrybehavior. 53, 3, 753-758, 1996.

THONGSAARD, W., CHAINAKUL, S., BENNETT, G.W., MARSDEN, C.A. Determination of barakol extracted from *Cassia siamea* by HPLC with electrochemical detection. J. Pharm. Biomed. 25, 853– 859, 2001.

TONA, L.; NGIMBI, N.P.; TSAKANA, M.; MESIA, K.; CIMANGA, K.; APERS, S.; BRUYNE, T.D.; PIETERS, L.; TOTTE, J.; VLIETINCK, A.J. *Journal Ethnopharmacology* 68(1-3): 193-203). 1999.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu, 2005. 718p.

TSAI, J.C.; CHANG, W. C. Effect of ethanol extracts of three Chinese medicinal plants with laxative properties on ion transport of the rat intestinal epithelia. *Biol Pharm Bull*, 27, 2, 162-5, 2004.

UPADHYAYA, S. K., SINGH, V. *Natl. Acad. Sci. Lett. (India)*, 12, 6, 181-2, 1989.

VALENCIA, E. et al. Estudio fitoquímico y actividad antialimentaria de *Senna stipulaceae*. *B. Soc. Chilena Química*, 5, 2, 297-301, 2000.

VALVERDE, A.; HAY, J.M.; FINGERHUT, A.; BOUDET, M.J.; PETRONI, R.; POULIQUEN, X.; MSIKA, S.; FLAMANT, Y. Senna vs polyethylene glycol for mechanical preparation the evening before elective colonic or rectal resection: a multicenter controlled Trial. *Archives Surgery* 134, 514-519, 1999.

VAN GORKOM, B. A., et al. Review article: anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects. *Aliment Pharmacol Ther*; 13, 4, 443-52, 1999.

VANDERPERREN, B., RIZZO, M., ANGENOT, L., HAUFROID, V., JADOUL, M. HANTSON, P., Acute liver failure with renal impairment related to the abuse of senna anthraquinone glycosides. *The Annals of Pharmacotherapy* 39, 1353–1357, 2005.

VAN GORKOM, B.A., DE VRIES, E.G., KARRENBELD, A., KLEIBEUKER, J.H., Anthranoid laxatives and their potential carcinogenic effects. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics* 13, 443–452, 1999.

VEIGAS, et al, Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero cássia, *Quim. Nova*, 29, 6, 1279-1286, 2006.

VEIGA JÚNIOR, V. F.; PINTO, A. C.; MACIEL, M. A. M. Plantas medicinais: cura segura? *Química Nova*, [s.l.], 28, 3, 519-528, 2005.

VENDRUSCOLO G. S, Rates SMK, Mentz LA. Dados químicos e farmacológicos sobre as plantas utilizadas como medicinais pela comunidade do bairro Ponta Grossa, Porto Alegre, Rio Grande do Sul. *Rev Bras Farmacogn* 15, 361-372, 2005.

VIEGAS, C. J.; REZENDE, A.; SILVA, D. H. S.; CASTRO-GAMBÔA, I.; BOLZANI, V. S.; *Quim. Nova* 2006, 29, 1279; Takkis, K.; Sild, S.; Maran, U.; *QSAR Comb. Sci.* 2009, 28, 829; Macedo E. M. S.; Wiggers, H. J.; Silva, M. G. V.; Montanari, C. A.; Braz Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* 2009, 20, 947.

VIEGAS JUNIOR, C., REZENDE, A., Silva, D.H.S., CASTRO-GAMBÔA, I e BOLZANI, V.S.. Aspectos químicos, biológicos e etnofarmacológicos do gênero *Cassia*. *Química Nova* 29: 1279-1286. 2006.

VIEGAS JUNIOR, C., BOLZANI, V.S., FURLAN, M., BARREIRO, E.J., YOUNG, M.C.M., TOMAZELA, D. & EBERLIN, M.N. Further bioactive piperidine alkaloids from the flowers and green fruits of *Cassia spectabilis*. *Journal of Natural Products* 67, 908-910, 2004b.

VEITCH, N. C. Isoflavonoids of the leguminosae. *Natural Products Reports*. 26, 6, 776-802, 2007.

WAGNER H, BLADT S. *Plant Drug Analysis – A thin layer chromatography atlas*. 2^a. ed. Berlin: Springer-Verlag, 1996.

WALLER, G.R. & Nowacki, E. *Alkaloid biology and metabolism in plants*. Plenum Press, New York. 1978.

WALKER, R., 2004. Criteria for risk assessment of botanical food supplements. *Toxicology Letters* 149, 187–195.

WANG, S. Y.; YANG, K. W.; HSU, Y. T.; CHANG, C. L.; YANG, Y. C. The differential inhibitory effects of genistein on the growth of cervical cancer cells in vitro. *Neoplasma*. 48, 227-233, 2001.

WATANABE, H., 2002. CNS inhibitory effects of barakol, a SÁ, I. M.; Valle, L. S.; Almeida, G. S.; *Rev. Bras. Bio.* 5, 276, 2007.

WASSEL, G. M., BAGHDADI, H. H. *Planta Med Phytother.*, 13, 1, 34-6, 1979.

WEBER, F.R.; Stoney, C. Reforestation in arid lands. Arlington, VA: Volunteers in Technical Assistance. 335 p, 1986.

WERKER, E.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; DUDAI, N. e KATZIR, I. Glandular hairs, secretory cavities, and the essential oil in leaves of tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants* 2, 19-32, 1994.

WESTENDORF J, Marquardt H, Poginsky B, Dominiak M, Schmidt J, Marquardt H. Genotoxicity of naturally occurring hydroxyanthraquinones *Mutation Res/Gen Toxicol* 240, 1-12, 1990.

WEYERMANN, J.; LOCHMANN, D.; ZIMMER, A. A practical note on the use of cytotoxicity assays. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 288, n, 21,p. 369–376, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Regulatory situation of herbal medicines: a worldwide review. Geneva: WHO, 45, 1998.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue bulletin: Situation of dengue/dengue haemorrhagic fever in SEA countries. 2004.

WORTHINGTON, T.B. Ceylon trees. Colombo: The Colombo Apothecaries Co. 429, 1959.

XAVIER HS. *Lavandula stoechas* L. (Lamiaceae): Etude Botanique, Chimique et Pharmacodynamique. [Tese]. Montpellier: Université de Montpellier - I; 1988.

YAGI, M. S.; EL TIGANI, S., ADEH, E. S., *Phytoter. Res.* 12 (1998) 324.

YASMIN, A. et al. *Pak. J. Sci. Ind. Res.*, 29, 5, 348-9, 1986.

YAGI, T. E.; MIYAWAKI Y; NISHIKAWA, A.; YAMAUCHI,K.; KUWANO, S.
Suppression of purgative action of rheinanthrone the active metabolite of sennosides A and B
by indomethacin in rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* 43, 307-310, 1991.

ANEXOS

ANEXO A – Folha de aprovação do Comitê de Ética

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 01 de novembro de 2012.

Ofício nº 504/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof. Sebastião José de Melo**
Departamento de Antibióticos
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.036439/2012-34

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, "**Busca no semi-árido do nordeste brasileiro de um sucedâneo para *Senna alexandrina* com potencial atividade laxativa**".

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Antibióticos - UFPE; Animais: Camundongos albinos; Linhagem: *Swiss*; Sexo: machos; Idade: 60 dias; Peso: 20 a 25g; Número de animais previsto no protocolo: 74


Prof. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

ANEXO B – Ficha de Identificação Botânica



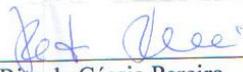
Secretaria de
Agricultura e
Reforma Agrária



HERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB Nº. 20/2012

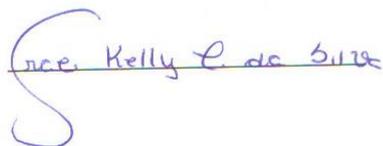
	Nº de Tombamento	Família	Nome Científico	Identificada por
01	87.186	Leg. Caes.	<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.	A. Bocage
02	87.187	Leg. Caes.	<i>Senna siamea</i> (Lam.) H.S. Irwin & Barneby	A. Bocage


Dr^a Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

Consulta: Grace Kelly Cordeiro da Silva – aluna do Programa de Pós – Graduação em
Ciências Farmacêuticas da UFPR

Procedência: Campus da UFPE
Determinada em: Março de 2012

Recebi em 12/04/2012


Grace Kelly Cordeiro da Silva

Instituto Agrônomo de Pernambuco - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
Av. Gal. San Martín, 1371 – Bongi – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022
CNPJ 10.912.293/0001-37 – PABX: (81) 3184-7200 – Fax: (81) 3184-7211
Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

IPA – 77 anos semeando conhecimento