

cod. 40120 8900

R 1383525 / 05

11/04/04 - 1300

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA  
DOUTORADO EM FARMACOLOGIA/ ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM  
FARMACOLOGIA

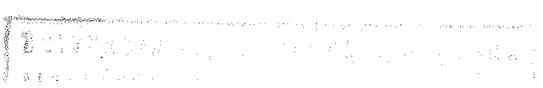
ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA DA *BAUHINIA UNGULATA* : PAPEL  
DOS INOSITÓIS COMPONENTES DOS MEDIADORES PUTATIVOS DA  
AÇÃO DA INSULINA

MARTA REGINA KERNTOPF MENDONÇA

FORTALEZA - CEARÁ

25 de junho de 2004

1016 4670  
42032  
a 1



MARTA REGINA KERNTOPF MENDONÇA

ATIVIDADE ANTIDIABÉTICA DA *BAUHINIA UNGULATA* : PAPEL  
DOS INOSITÓIS COMPONENTES DOS MEDIADORES PUTATIVOS DA  
AÇÃO DA INSULINA

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em  
Farmacologia / Área de Concentração em Farmacologia  
da Universidade Federal do Ceará, como requisito  
parcial para obtenção do grau de Doutor.

Orientador: **Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles.**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

FORTALEZA – CE

25 de Junho de 2004

M496a Mendonça, Marta Regina Kerntopf  
Atividade antidiabética de *Bauhinia unguolata* : papel dos inosítóis componentes dos mediadores putativos da ação da insulina / Marta Regina Kerntopf Mendonça. – Fortaleza, 2004.  
189f. : il.  
Orientador: Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles.  
Tese (Doutorado). Universidade Federal do Ceará. Curso de Pós-graduação em Farmacologia  
1. *Diabetes mellitus*. 2. Inositol. 3. *Bauhinia unguolata* 4. Mororó. 5. Pata-de-vaca. 6. Insulina. 7. Colesterol. I Título.  
CDD 616.462

Esta Tese foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Farmacologia / Área de Concentração em Farmacologia, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca de Pós-Graduação do Centro de Ciências da Saúde da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta Tese é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

  
Marta Regina Kerntopf Mendonça

Tese aprovada em: 25/06/2004.

Examinadores:



---

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles  
(Orientador da Tese)

---

Profa. Dra. Helena Serra Azul Monteiro  
Universidade Federal do Ceará

 Prof. Dr. Francisco José de Abreu Matos  
Universidade Federal do Ceará

---

Prof. Dr. Marcos Fábio Gadelha Rocha  
Universidade Estadual do Ceará

---

Profa. Dra. Helena Alves de Carvalho Sampaio  
Universidade Estadual do Ceará

“(...) enfim, o que dá o verdadeiro sentido ao encontro é a busca e é preciso andar muito para alcançar o que esta perto.”

*José Saramago*

A vocês, que mesmo distantes, mantiveram-se sempre ao meu lado, dedico minha conquista com a mais profunda admiração e respeito:

- A memória do meu pai, **Egidio Daniel Kerntopf** que contribuiu com meu desenvolvimento moral e espiritual. O senhor foi um pai maravilhoso, peço-lhe que continue me abençoando, pois vou continuar a pedir-lhe a bênção; como sempre ...  
*“Benção pai !!!*
- À minha mãe **Maria Antunes Kerntopf**. *“Sem palavras ...”*
- À **Dona Maria Alves da Cruz**. Obrigada por ajudar-me nos momentos mais difíceis.
- A memória da minha tia **Margarida Leonor Thereska**, com gratidão.
- Aos meus irmãos (**Kacia Kerntopf Müller** e **Euclides Kerntopf**), avô, tios, cunhados e sobrinhos, com carinho.
- A memória da minha sogra, **Maria Norma Ribeiro Mendonça**, pelo estímulo.

Ao meu queridíssimo esposo **Luiz Alberto Ribeiro Mendonça**, cuja inteligência brilhante, humor, compaixão, paciência e devoção traz amor e alegria a todos os dias de minha vida.

*Eu amo você!!!*

## AGRADECIMENTOS

- a **Deus** que é essência da vida;
- aos **animais de experimentação** utilizados neste trabalho, cujo sacrifício de suas vidas, espero não ter sido em vão;

Ninguém consegue muita coisa sem a contribuição dos outros e a conclusão deste trabalho não foi uma exceção. Nossa tese foi abençoada com o incentivo e a ajuda de muitas pessoas maravilhosas e talentosas, por este motivo, expresso meu especial agradecimento:

- ao prof. **Dr. Manasses Claudino Fonteles**, pela eficiente orientação, dedicação, paciência, estímulo, amizade e auxílio inestimável oferecidos no desenvolvimento desta Tese; assim como a sua doce esposa profa. **Dra. Maria das Graças Roriz Sá Fonteles**, cuja presença enche de canto, encanto, poesia, paz e alegria, eu a acho um ser humano muito especial;
- ao prof. **Dr. Joseph Larner** do Departamento de Farmacologia da Universidade de Virginia da Faculdade de Medicina em *Charlottesville* e toda sua equipe, principalmente ao técnico Douglas Heimark, pela dosagem dos poliálcoois em extratos vegetais e biológicos e doação de algumas drogas;
- ao prof. **Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento**, da Universidade Estadual do Ceará pelo entusiasmo, incentivo, agradável convivência e valiosas sugestões que foram muito importantes no decorrer de todo trabalho. “(...) *há amigo mais chegado que um irmão.*” Provérbios 18:24;

- à profa. **Dra. Maria Iracema Lacerda Machado**, ao prof. **Dr. Francisco José de Abreu Matos**, ao prof. **Dr. Afrânio Aragão Craveiro**, a profa. **Dra. Maria Elisa de Oliveira Matos**, a profa. **Dra. Mary Anne Medeiros Bandeira**, ao prof. **Dr. Roberto Lima de Albuquerque**, meus incentivadores e grandes exemplos de vida, pessoas em que me inspiro como fonte de trabalho e honestidade; em resumo, a todos que compõem as duas famílias, a do Laboratório de Produtos Naturais (LPN) e do Parque de Desenvolvimento Tecnológico (PADETEC) da Universidade Federal do Ceará, por me receberem com um clima de companheirismo e ajuda sempre pronta e eficaz;
- aos colegas e amigos do Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, nas pessoas: do professor identificador especialista em *Caesalpinaceae* prof. **Dr. Afrânio Gomes Fernandes**, da profa. curadora **Dra. Francisca Simões Cavalcante**, do prof. **Dr. Edison Paula Nunes**, da mestre profa. **Eliedir Ribeiro da Cunha Trigueiro** e do técnico **Adalberto Maciel Mano de Carvalho** que muito gentilmente ajudou-me a preparar a excicata. Todos foram muito importantes na identificação botânica da espécie de *Bauhinia* aqui estudada;
- à coordenadora, profa. **Dra. Maria Elisabete Amaral de Moraes** e aos demais professores do curso de pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, pelas informações e incentivos;
- à profa **Dra. Helena Serra Azul Monteiro**, *pessoa admirável*, a qual tive a honra de conviver durante os experimentos de minha tese, cujos ensinamentos históricos e científicos permanecerão em mim;

- à profa. **Dra. Maria Goretti Rodrigues de Queiroz** e à profa. **Dra. Alice Maria Costa Martins** da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, pela amizade e a valiosa colaboração nas análises bioquímicas;
- à profa. **Dra. Ieda Pereira de Souza** da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará e ao técnico **Antônio Eduardo de Castro Barros** pela amizade e colaboração indispensável nas análises e hematológicas;
- ao farmacêutico bioquímico do IBIMED prof. **Dr. Domingos Barreto Oliveira**, à técnica de laboratório **Silvia Maria Silva França** e a auxiliar de laboratório **Francisca Gardênia de Sousa** por contribuíram para algumas análises bioquímicas e principalmente deixarem o laboratório com um clima de harmonia e paz;
- ao prof. **Dr. Dalgimar Beserra de Menezes** pela agradável convivência, senso de humanidade e sua importante colaboração nas análises histopatológicas e à profa. **Dra. Régia Maria do Patrocínio Granjeiro Ferreira** pela simpatia, ambos do Departamento de Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará;
- à profa. **Dra. Maria Augusta Drago Ferreira** e à profa. **Dra. Nadia Accioly Pinto Nogueira** da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, professoras excelentes e boas amigas;
- ao prof. **Dr. Aldo Ângelo Moreira Lima**, pela agradável convivência e por levar amostras para dosagem dos poliálcoois para o laboratório do Dr. Josef Larner do Departamento de Farmacologia da Universidade de Virginia da Faculdade de Medicina em *Charlottesville*;

- ao prof. **Dr. Otoni Cardoso do Vale**, pesquisador do IBIMED, pela cortesia, atenção e apoio nos momentos oportunos;
- ao prof. **Dr. Vietla Satyanarayana Rao**, pesquisador do curso de pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará e ao prof. **Dr. Horst Frischkorn** pesquisador do curso de pós-graduação em Recursos Hídricos da Universidade Federal do Ceará, amigos queridos, pesquisadores dedicados e seres humanos admiráveis;
- à bibliotecária **Norma de Carvalho Linhares** da Biblioteca de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Ceará (UFC), pelas normas técnicas utilizadas na edição das referências bibliográficas desta tese;
- às estudantes, **Carla Kerr Pontes**, **Daniele Sales do Vale** e **Julieta Cunha Martins**, bolsistas de iniciação científica, que me auxiliaram em alguns experimentos. Obrigada;
- Aos alunos do curso de Farmácia da Universidade Federal do Ceará, **Roberto Falcão Pereira**, **Renata de Souza Alves**, **Cleidiene Chaves de Aprígio**, **Daniel Freire de Souza** e **Jamile Magalhães Ferreira**, pelo apoio e constância;
- ao técnico **Ricardo da Silva Martins**, à técnica **Olga Ramos**, à secretária **Suely Silva**, ao mestre prof. **Odécio da Costa**, à profa. **Dra. Francisca Noélia** e ao prof. **Dr. Ícaro Mendes** do PADETEC, pela amizade, colaboração e incentivos;
- aos funcionários do IBIMED que deram sua parcela de contribuição nessa jornada, nas pessoas de: **Fabiana Maria da Silva Nascimento**, **José Amadeus Souza**, **Kátia Maria Lima Nogueira**, **Maria Joana Tavares (Dona Joaninha)** e **Teresa França**;



- aos funcionários do Biotério do IBIMED da Universidade Federal do Ceará, nas pessoas de: **Jociê Andrade de Souza e Bento Francisco Furtado de Oliveira**, assim como seus ajudantes **Alexandre Furtado de Oliveira e Tancredo Furtado de Oliveira**, pela dedicada colaboração;
- à secretária **Silvia Maria Azevedo de Lima** e sua assistente **Áurea Rhanes Farias Nogueira Ylda**, do curso de Pós-Graduação, pela cooperação em algumas dificuldades burocráticas e também à **Maria Rosilene Matias Ferreira** (*Rosy da portaria*), pela amabilidade com que trata a todos;
- aos companheiros de labuta **Dr. Alexandre Havt Bindá, Almira Carolina Pereira de Almeida, Dra. Ana Lourdes Camurça Fernandes Vasconcelos, Dra. Arlândia Cristina Lima Nobre, Clauber Mota Souza, Dr. Francisco Romero Cabral, Lucília Maria Abreu Lessa** (*Miss Docinho*); **Manuel Carlos Serra Azul Monteiro, Dr. Paulo Sérgio Ferreira Barbosa, Ricardo Lira e Dra. Sandra Maria Nunes Monteiro** obrigada pela amizade e pelos momentos de diversão;
- ao prof. **Dr. Lúcio Flávio Gonzaga Silva**, a profa. **Dra. Sônia Maria Leite** e profa. **Dra. Valéria Góes Ferreira Pinheiro**, meus queridos amigos doutorandos, com quem dividi as alegrias e preocupações de algumas etapas da vida e do curso;
- à **Ana de Souza, Dra. Andréa Secundo dos Santos, Claudete Delattore, Luzia de Souza, Dra. Maria Daniele Azevedo Teixeira, Dra. Núbia Maria Mota Luna, Dra. Ray Bandeira, Dra. Rita Izabel Monteiro Galvão, Dra. Silvania Bandeira e Dra. Tereza Jesus da Cruz**, queridas amigas, de Norte a Sul do País.



- à Dra. Renata Ferreira de Carvalho Leitão, obrigada pelo “*sorriso*” de sua amizade;
- aos colegas da pós-graduação, pela estima, pelo ambiente de agradável convivência;
- a todas as pessoas, que de alguma forma tenham contribuído direta ou indiretamente no transcorrer desta Tese;
- a todos aqueles que lutaram e lutam por uma Universidade pública, gratuita e de qualidade, fundamental em minha formação;
- ao Labteste pela doação de alguns reagentes bioquímicos;
- à Fundação Cearense de Amparo a Pesquisa - FUNCAP, pelo suporte financeiro.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	XV
LISTA DE TABELAS.....	XXIII
LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS.....	XXV
RESUMO.....	XXVII
ABSTRACT.....	XXVIII
PREFÁCIO.....	XXIX
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Apresentação.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. <i>Diabetes mellitus</i> – generalidades.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3. Angiopatia diabética.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4. O tratamento do <i>diabetes</i> e da hipercolesterolemia com plantas medicinais.....</b>	<b>11</b>
1.4.1. <i>Mecanismo de ação dos constituintes hipoglicemiantes e hipolipemiantes de plantas medicinais.....</i>	12
<b>1.5. Considerações botânicas sobre <i>Bauhinia unguolata</i> - <i>Caesalpinaceae</i>.....</b>	<b>15</b>
<b>1.6 <i>Bauhinias</i> - Súmula histórica e estado atual da arte.....</b>	<b>23</b>
1.6.1. <i>Etnofarmacologia das espécies de <i>Bauhinia</i>.....</i>	23
1.6.2. <i>Formulações caseiras para o uso das plantas do gênero <i>Bauhinia</i>.....</i>	24
1.6.3. <i>Revisão sobre os estudos fitoquímicos de plantas do gênero <i>Bauhinia</i>.....</i>	25
1.6.4. <i>Dados farmacológicos sobre as plantas do gênero <i>Bauhinia</i> e/ou substâncias químicas delas isoladas.....</i>	36
<b>1.7. Inositóis.....</b>	<b>48</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>55</b>
<b>2.1. Objetivos gerais.....</b>	<b>55</b>
<b>2.2. Objetivos específicos.....</b>	<b>56</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>58</b>
<b>3.1. Herborização e identificação do espécime botânico.....</b>	<b>58</b>
<b>3.2. Estudo químico.....</b>	<b>61</b>
3.2.1. <i>Obtenção dos extratos aquoso e etanólico das folhas de <i>Bauhinia unguolata</i>.....</i>	61
3.2.2. <i>Identificação e quantificação de inositóis no extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU).....</i>	62
3.2.3. <i>Quantificação de íon potássio e sódio no extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU).....</i>	64

<b>3.3. Testes biológicos.....</b>	<b>64</b>
3.3.1. Animais experimentais.....	64
3.3.2. Drogas e reagentes.....	65
3.3.3. Solução nutritiva.....	67
3.3.4. Metodologia e princípios bioquímicos para avaliação dos perfis glicêmicos e lipídicos.....	67
3.3.4.1. Glicose .....	67
3.3.4.2. Triglicérides.....	69
3.3.4.3. Colesterol Total.....	70
3.3.4.4. Colesterol HDL.....	71
3.3.4.5. Colesterol LDL.....	72
3.3.4.6. Índice Aterogênico (IA).....	73
3.3.5. Efeitos hipocráticos e determinação da dose letal média (DL <sub>50</sub> ) .....	73
3.3.6. Avaliação da toxicidade sub-aguda.....	74
3.3.7. Determinação da atividade hipoglicemiante.....	75
3.3.7.1. Atividade hipoglicemiante aguda.....	75
3.3.7.2. Teste de tolerância oral a glicose - efeito do EABU e do EEBU.....	77
3.3.8. Avaliação dos efeitos metabólicos (perfil glicêmico e lipídico) e no ganho de peso corporal, após tratamento oral com o extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) durante 3 semanas.....	79
3.3.9. Efeitos do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na dislipidemia induzida por tiloxapol.....	80
3.3.10. Efeito do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na pressão arterial média (PAM).....	82
3.3.11. Estudo da atividade vasodilatadora do EABU.....	84
3.3.12. Avaliação do potencial vasoprotetor do EABU.....	85
3.3.12.1. Anéis de aorta de rato.....	86
3.3.12.2. Leito vascular mesentérico.....	88
3.3.13. Determinação das concentrações de D-qui-ro-inositol (DCI) na urina de ratos diabéticos por aloxana.....	89
3.3.15. Análise estatística.....	91

<b>4.RESULTADOS.....</b>	<b>92</b>
<b>4.1. Identificação e quantificação de inositóis no extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) .....</b>	<b>92</b>
<b>4.2. Quantificação dos teores de sódio e potássio no extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i>.....</b>	<b>96</b>
<b>4.3. Efeitos hipocráticos e determinação da dose letal media (DL<sub>50</sub>).....</b>	<b>96</b>
<b>4.4. Avaliação da toxicidade sub-crônica.....</b>	<b>98</b>
<b>4.5. Atividade hipoglicemiante dos extratos de <i>Bauhinia unguolata</i> e dos mediadores putativos da insulina em ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) após duas horas de infusão intravenosa.....</b>	<b>102</b>
<b>4.6. Atividade hipoglicemiante dos extratos orgânicos de <i>Bauhinia unguolata</i> e de mediadores putativos da insulina em ratos diabéticos pela estreptozotocina após tratamento oral.....</b>	<b>107</b>
<b>4.7. Atividade hipoglicêmica de extratos de <i>Bauhinia unguolata</i> no teste de tolerância oral à glicose em ratos.....</b>	<b>111</b>
<b>4.8. Atividade do tratamento de 3 semanas com EABU (Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i>), pinitol, d-qui-ro-inositol e insulina sob o peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos-STZ.....</b>	<b>113</b>
<b>4.9. Atividade hipolipemiante do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) em camundongos tratados com Tiloxapol..</b>	<b>120</b>
<b>4.10. Efeito do EABU na pressão arterial média (PAM) de ratos normotensos.....</b>	<b>124</b>
<b>4.11. Estudo da atividade vasodilatadora do EABU.....</b>	<b>133</b>
<b>4.12. Efeito do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na disfunção endotelial de ratos diabéticos por estreptozotocina.....</b>	<b>135</b>
<b>4.13. Determinação das concentrações de D-qui-ro-nositol (DCI) na urina de ratos diabéticos por aloxana.....</b>	<b>141</b>
<b>5.DISSCUSSÃO.....</b>	<b>147</b>
<b>6.CONCLUSÕES.....</b>	<b>163</b>
<b>7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>165</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b>	Características morfológicas do gênero <i>Bauhinia</i> .....	17
<b>Figura 2.</b>	Espécime adulta de <i>Bauhinia unguolata</i> Linnaeus.....	21
<b>Figura 3.</b>	Desenhos de <i>Bauhinia unguolata</i> Linnaeus e <i>Bauhinia cheilanta</i> Steud. Espécies de <i>Bauhinia</i> mais comuns no Nordeste do Brasil especialmente no Ceará.....	22
<b>Figura 4.</b>	Fotocópia <i>in vivo</i> da espécie <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	22
<b>Figura 5.</b>	Estruturas do mio-, D e L quiro-inositol. Nos esqueletos químicos é possível observar que o mio-inositol é epimerizado na posição 1 originando o isômero L-quiró-inositol e na posição 3 o isômero D-quiró-inositol.....	50
<b>Figura 6.</b>	Seqüência de operações de montagem da prensa para preparação da exsicata de <i>Bauhinia unguolata</i> L.....	59
<b>Figura 7.</b>	Fotocópia da exsicata de <i>Bauhinia unguolata</i> L. que se encontra no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC, registrada sob o número de código 31.930...	60
<b>Figura 8.</b>	Fluxograma de obtenção do Extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) e do Extrato etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i> (EEBU).....	62
<b>Figura 9.</b>	Protocolo de avaliação do efeito do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na dislipidemia induzida por tiloxapol.....	82
<b>Figura 10.</b>	Cromatograma do hidrolisado com HCl do Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU-hidrolisado-HCl), com identificação dos picos de inositóis.....	93
<b>Figura 11.</b>	Cromatograma do hidrolisado com TFA do Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU-hidrolisado-TFA), com identificação dos picos de inositóis e oses.....	94

- Figura 12.** O efeito agudo da infusão intravenosa do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da infusão do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). As taxas de infusão para ambos os extratos foram de 0,25; 0,5 e 1 mg/Kg/min. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU0,25 e Diab-EEBU0,5..... 105
- Figura 13.** O efeito agudo da infusão intravenosa de D-quirositol (DCI), metil-D-quirositol (me-DCI) e extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da infusão do extrato aquoso (EABU) ou etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) na taxa de 1 mg/Kg/min comparada com o efeito da infusão de 0,4 mg/Kg/min de ambos os inosítois [D-quirositol (DCI) e pinitol (me-DCI)] e de 20 nm/Kg/min de insulina (INS). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-insulina..... 106
- Figura 14.** O efeito agudo após administração oral do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da administração oral do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). As doses para ambos os extratos foram de 100; 200 e 400 mg/Kg. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU200. & p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU100..... 109

- Figura 15.** O efeito agudo após administração oral de 20 mg/Kg D-quirositol (DCI) ou metil-D-quirositol (me-DCI) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) comparado com o efeito da glibenclamida (2 mg/Kg) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado a comparação entre os efeitos hipoglicemiantes após administração oral de 400 mg/Kg de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) ou extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) comparado com o efeito dos inositóis D-quirositol (DCI) ou metil-D-quirositol (me-DCI) (20 mg/Kg) e glibenclamida (2 mg/Kg). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6/grupo). As doses extratos foram de 0,25; 0,5 e 1 mg/Kg/min. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-glibenclamida..... 110
- Figura 16.** Efeito protetor do EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) e EEBU (Extrato Etanólico de *Bauhinia unguolata*) no teste de tolerância oral a glicose em ratos, quando administrados na dose de 400 mg/Kg por via oral 30 minutos antes da sobrecarga de glicose (n=8 animais/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Sobrecarga+Veículo. # p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Controle que não sofreu sobrecarga (cont s/ sobrec)..... 112
- Figura 17.** Correlação linear entre valores de concentração sérica de glicose e índice aterogênico de uma amostra populacional de ratos Wistar euglicêmicos (n=36) e de ratos diabéticos por estreptozotocina (n=56)..... 116

- Figura 18.** Efeito do tratamento oral por três semanas através de gavagem oroesofágica com 400 mg/Kg de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU; painel A) ou extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU; painel B) no índice aterogênico de ratos diabéticos por estreptozotocina (DIAB) comparado com o efeito obtido em animais euglicêmicos. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p < 0,001$ , teste t de Student pareado vs. controle diabético anterior ao tratamento. v = veículo; eugli = euglicêmico. #  $p < 0,001$  teste t de Student não pareado vs. animais euglicêmicos controles..... 118
- Figura 19.** Efeito do tratamento oral por três semanas através de gavagem oroesofágica com 20 mg/Kg de D-quiró inositol (DCI) ou metil-D-quiró-inositol (me-DCI) no índice aterogênico de ratos diabéticos por estreptozotocina (DIAB) comparado com o efeito obtido em animais euglicêmicos. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p < 0,001$ , teste t de Student pareado vs. controle diabético anterior ao tratamento. V=veículo; eugli=euglicêmico. #  $p < 0,001$ ..... 119
- Figura 20.** Em (A) observa-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipertrigliceridemia induzida por tiloxapol (400 mg/Kg) após 24 horas da indução. No painel (B) verifica-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipertrigliceridemia induzida por tiloxapol (Triton; 400 mg/Kg) após 48 horas da indução, (n=10/grupo). Letras diferentes correspondem a diferença estatística com significância de 5%, teste t de Student pareado 122
- Figura 21.** Em (A) verifica-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipercolesterolemia induzida por tiloxapol (400 mg/Kg) após 24 horas da indução. Em (B) observa-se o efeito do EABU na hipercolesterolemia induzida por tiloxapol (Triton); 400 mg/Kg) após 48 horas da indução, (n=10/grupo). Letras diferentes correspondem a diferença estatística com significância de 5%, teste t de Student pareado..... 123

- Figura 22.** O espectro mostra um traçado de polígrafo representando o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na pressão arterial média (PAM), usando-se acetilcolina (Ach) (5  $\mu\text{g/Kg}$ ) como controle. As setas indicam o local do registro que marca o ponto de aplicação da Ach ( $\mu\text{g/Kg}$ ) e do EABU (mg/Kg). O traçado é representativo de 6 experimentos..... 124
- Figura 23.** O painel (A) mostra o efeito de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e da acetilcolina (ACh) na pressão arterial média (PAM) em animais normotensos após infusão intravenosa em *bolus* nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg. Em (B) é mostrado a ausência de efeito deste extrato na frequência cardíaca *in vivo*. Os dados são mostrados como média  $\pm$  erro padrão da média \* $p < 0,05$ , teste t de Student pareado vs. basal imediatamente anterior (n=6/grupo)..... 126
- Figura 24.** O gráfico (A) mostra o efeito de bloqueadores de receptores muscarínicos e adrenérgicos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU). As drogas atropina (ATR 1 mg/kg), fentolamina (0,1 mg/kg) e propranolol (2 mg/kg) foram injetados 20 minutos antes da administração de EABU e comparadas com o efeito obtido antes da injeção das drogas. Em (B) na ausência de efeito de bloqueadores inespecíficos de receptor da serotonina (quentaserina: KEN; 20 mg/kg), bloqueador histaminérgico (prometazina; PROM; 1 mg/kg), bloqueador da síntese de prostanóide (indometacina; INDO; 40 mg/kg) e do bloqueador ganglionar (hexametônio; HEX; 5 mg/kg) na resposta hipotensora induzida pelo EABU. As drogas foram injetadas 20 minutos antes da administração de EABU e comparadas com o efeito obtido antes da injeção das drogas. Os dados são expressos com média  $\pm$  erro padrão (n = 6/grupo). \* $p < 0,05$  vs. hipotensão induzida pelo EABU antes da injeção da droga. 127
- Figura 25.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a atropina (ATR; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para o hexametônio (HEX; 30 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos..... 128

- Figura 26.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para o propranolol (PRO; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para a fentolamina (FEN; 0,1 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos..... 129
- Figura 27.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a prometazina (PROM; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para a quentaserina (KEN; 20 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos..... 130
- Figura 28.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a indometacina (IND; 40 mg/kg) e em (B) um traçado para o potássio (K<sup>+</sup>; 13 mEq/Kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos..... 132
- Figura 29.** Em (A) é mostrado o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) no leito arteriolar mesentérico (leito de resistência) quando infundido em *bolus* em doses variando de 0,1 a 20 mg. Os efeitos são comparados com aqueles obtidos após injeção isovolumétrica de salina. Os dados são mostrados como média ± erro padrão da média (n=7/grupo). \*p<0,05, análise de variância seguida de teste de Tukey. No painel (B) é mostrado um traçado poligráfico representativo do efeito do EABU na resistência vascular do leito mesentérico perfundido a fluxo constante..... 134

- Figura 30.** Curva dose-resposta à acetilcolina em anéis de aorta de rato com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina (A) e em (B) é mostrado a disfunção endotelial nos animais diabéticos e a prevenção da mesma nos animais tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), (n=7/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \*p< 0,05 versus diabético + EABU e # p< 0,05 versus diabético..... 136
- Figura 31.** Efeito da acetilcolina na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico obtido de ratos euglicêmico e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina (A) e em (B) é mostrado a disfunção endotelial nos animais diabéticos e a prevenção da mesma nos animais tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), (n=7/grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença de EABU. \*p<0,05, teste de variância ANOVA seguida de Tukey vs. Diabético + salina. # p<0,05, teste de variância ANOVA seguida de Tukey vs. euglicêmico+ salina.. 138
- Figura 32.** Efeito endotélio-independente induzido pelo nitroprussiato de sódio em anéis de aorta, obtido de ratos euglicêmicos e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina, (n=7/grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença de EABU..... 139
- Figura 33.** Efeito do nitroprussiato de sódio na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico obtido de ratos euglicêmicos e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina, (n=7/grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU)..... 140
- Figura 34.** Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na excreção urinária de D-qui-ro-inositol (DCI) em ratos diabéticos mantidos em gaiola metabólica tratados com salina ou EABU comparado com a taxa de excreção de ratos euglicêmicos (n= 5 animais/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Diabético+Veículo. # p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs.Euglicêmico+Veículo..... 144

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b>	Classificação taxonômica da <i>Bauhinia unguolata</i> Linnaeus...	18
<b>Tabela 2.</b>	Espécies do gênero <i>Bauhinia</i> com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica.....	28
<b>Tabela 3.</b>	Grupos experimentais selecionados para o teste de tolerância oral a glicose, verificando o efeito do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) e do extrato etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i> (EEBU) após uma sobrecarga de glicose.....	78
<b>Tabela 4.</b>	Grupos experimentais selecionados para avaliação dos efeitos metabólicos (perfil glicêmico e lipídico) e no ganho de peso corporal, após tratamento oral com EABU, EEBU, pinitol, D-qui-ro inositol, insulina e salina tratados diariamente por 3 semanas.....	80
<b>Tabela 5.</b>	Grupos experimentais selecionados para a verificação dos efeitos do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na dislipidemia induzida por tiloxapol (n=10/cada grupo).....	81
<b>Tabela 6.</b>	Grupos experimentais selecionados para avaliação do perfil glicêmico e lipídico, dosagem de sódio, potássio e D-qui-ro inositol (DCI)] e ganho de peso corporal, após gavagem oral com o extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) e salina, tratados diariamente por 3 semanas.....	90
<b>Tabela 7.</b>	Constituintes químicos observados nos dois hidrolisados (EABU-hidrolisado-HCl e EABU-hidrolisado-TFA) obtidos a partir do EABU.....	95
<b>Tabela 8.</b>	Doses utilizadas do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) no teste de toxicidade aguda e mortalidades obtidas após 24 horas da administração intraperitoneal deste extrato ou do veículo (0,9% de salina) em camundongos.....	97
<b>Tabela 9.</b>	Ganho de peso corporal de ratos de ambos os sexos, ao fim de 30 dias de tratamento com EABU (Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> ) (400mg/Kg).....	98

<b>Tabela 10.</b>	Parâmetros hematológicos de ratos Wistar antes e depois do tratamento oral por 30 dias com 400 mg/Kg/dia EABU (Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> ) ou salina (0,1 mL/Kg).....	100
<b>Tabela 11.</b>	Perfil bioquímico de ratos Wistar antes e depois do tratamento oral por 30 dias com 400 mg/Kg/dia EABU (Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> ) ou salina 0,09% (0,1 mL/Kg).....	101
<b>Tabela 12.</b>	Efeito agudo do EABU (Extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> ), EEBU (Extrato etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i> ), Pinitol, D-qui-ro-ino-sitol e insulina sobre a concentração plasmática de glicose em ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) após infusão intravenosa.....	104
<b>Tabela 13.</b>	Efeito agudo do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU), extrato etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i> (EEBU), Pinitol, D-qui-ro-ino-sitol e glibenclamida sobre a concentração plasmática de glicose em ratos-diabéticos por estreptozotocina (STZ) após tratamento oral.....	108
<b>Tabela 14.</b>	Atividade hipoglicêmica de extratos de <i>Bauhinia unguolata</i> no teste de tolerância oral à glicose em ratos euglicêmicos...	111
<b>Tabela 15.</b>	Efeito do tratamento oral de 3 semanas com extratos de <i>Bauhinia unguolata</i> e mediadores putativos da insulina no peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos-STZ, comparados com os da insulina.....	115
<b>Tabela 16.</b>	Efeito do extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) na disfunção endotelial de ratos diabéticos por estreptozotocina.....	137
<b>Tabela 17.</b>	Efeito do tratamento oral de 3 semanas com extrato aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i> (EABU) no peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos- ALX.....	143

## LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

ACH	Acetilcolina
ALX	Aloxana
ATR	Atropina
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COL	Colesterol
CT	Colesterol total sérico
DCI	D-quirositol
DE	Disfunção endotelial
Diab	Diabético
DL <sub>50</sub>	<i>determinação da dose letal média</i>
DM	<i>Diabetes mellitus</i>
EABU	Extrato Aquoso de <i>Bauhinia unguolata</i>
EEBU	Extrato Etanólico de <i>Bauhinia unguolata</i>
EPM	Erro Padrão da Média
Eugli	Euglicêmico
FENTO	Fentolamina
FEN	Fenilefrina
HIST	Histamina
GLUT-4	Transportador de glicose
HDL	( <i>High Density Lipoprotein</i> ) - Lipoproteína de Alta Densidade
HEX	Hexametônio
i.p.	Intra peritoneal
IA	Índice Aterogênico
IBIMED	Instituto de Biomedicina
IDDM	Diabetes melito insulino dependente
IND	Indometacina
ISO	Isoproterenol
K <sup>+</sup>	Potássio
Na <sup>+</sup>	Sódio
KEN	Quentaserina
KHS	Solução de Krebs-Henseleit
LDL	( <i>Low Density Lipoprotein</i> ) - Lipoproteína de Baixa Densidade
LPN	Laboratório de Produtos Naturais

LVM	Leito vascular mesentérico
MCH	Hemoglobina corpuscular média
MCHC	Concentração de hemoglobina corpuscular média
MCV	Volume corpuscular médio
me-DCI	Pinitol ou 3-metil-D-qui-ro-inositol
NIDDM	Diabetes melito não insulino dependente
PADETEC	Parque de Desenvolvimento Tecnológico
PRO	Propranolol
PROM	Prometazina
s.c.	Sub cutâneo
SER	Serotonina
SNP	Nitroprussiato de sódio
STZ	Estreptozotocina
R <sub>máx</sub>	resposta máxima
TG	Triglicérides
TGA	Teste geral de atividades
v.o.	Via oral
VLDL	( <i>Very Low Density Lipoprotein</i> ) - Lipoproteínas de Baixíssima Densidade

## RESUMO

**Atividade antidiabética da *Bauhinia unguolata*: papel dos inositóis componentes dos mediadores putativos da ação da insulina.**

Marta Regina Kerntopf Mendonça

Orientador: Dr. Manassés Claudino Fonteles

Tese de Doutorado em Farmacologia – UFC, 2004.

*Bauhinia unguolata* (“Mororó”) é uma árvore da família *Caesalpinaceae* que é utilizada na medicina popular como agente hipoglicemiante oral. Nesta tese foi avaliada a atividade antidiabética de extratos aquosos e etanólicos obtidos das folhas desta planta e comparadas com inositóis (D-qui-ro-ino-sitol e pinitol) identificados no extrato aquoso. Além do mais a toxicidade geral e atividade antihipertensiva foram também avaliadas. O extrato aquoso (EABU) possui atividade hipoglicemiante de caráter agudo tanto por administração endovenosa como oral. Nenhuma toxicidade digna de nota foi encontrada após administração oral de EABU (400 mg/ kg) por 1 mês. O efeito hipoglicemiante foi reproduzido pelos inositóis tanto após administração endovenosa como oral. O extrato etanólico apresentou potência hipoglicemiante maior que o EABU talvez devido a um maior conteúdo de inositóis. A administração oral de EABU também protege ratos euglicêmicos de uma sobrecarga oral de glicose de maneira similar à glibenclamida. Ademais, a administração de EABU proveu bom controle glicêmico em ratos diabéticos por estreptozotocina com melhora também de perfil lipídico e redução de índice aterogênico. O EABU possui também atividade hipolipemiante direta demonstrada em camundongos com dislipidemia induzida por tiloxapol. A administração de EABU em *bolus* endovenoso induz hipotensão que foi demonstrado depender de uma diminuição da resistência periférica por ação vasodilatadora. A função endotelial prejudicada em vasos de ratos diabéticos foi também restaurada após tratamento com EABU. Adicionalmente, o EABU restaurou os níveis de DCI urinário após administração oral por 3 semanas demonstrando um potencial na reversão da resistência insulínica. Em conclusão, esta é o primeiro trabalho a apontar um provável princípio ativo para a atividade hipoglicemiante de uma espécie de *Bauhinia* comum nas áreas litorâneas e serranas do Ceará, a demonstrar sua atividade vasoprotetora e provável ação sensibilizadora dos tecidos à ação da insulina.



## ABSTRACT

### **Antidiabetic activity of *Bauhinia unguolata*: Role of inositols components of the putative mediators of insuline action**

**Marta Regina Kerntopf Mendonça.**

Mentor: Ph.D. Manassés Claudino Fonteles

Doctoral Thesis – UFC, 2004

*Bauhinia unguolata* (“Mororo”) is a *Caesalpinaceae* tree widely used in the popular medicine of Ceará, Brazil, as an hypoglicemiant agent. In this study, aqueous and ethanolic extracts from the leaves of this tree were evaluated in order to validate its reputed antidiabetic activity, to access its relative toxicity and to investigate inositols identified in this plant as possible active principles for the hypoglicemiant activity. The aqueous extract (AEBU) of *B. unguolata* was demonstrated to have hypoglicemiant activity by both oral and intravenous route. This extract was also shown to be devoided of overt toxicity by the oral route. The acute hypoglicemiant effect by intravenous or oral administration were quite reproduced by the inositols (D-chiro-inositol or pinitol) identified in AEBU in enough amounts to be responsible for the observed effects. The ethanolic extract was shown to have a more potent hypoglicemiant effect than AEBU, maybe by its higher content of inositols. AEBU also protected euglycemic rats against an oral glucose overload in a similar fashion as did glibenclamide, a conventional antidiabetic drug. On the other hand, AEBU also provided a good glycemic control for STZ-diabetic rats after 3 weeks oral administration. This later effect was followed by a better lipid profile with a lower atherogenic index. AEBU was also shown to have a direct hypolipemiant effect in a nice model of dyslipidaemia induced by tiloxapol. To better approach its general safety the effects on the mean arterial blood pressure (MAP) were studied and AEBU was shown to have hypotensive activity by means of a direct vasodilatory action on resistance vessels. This activity raises the possibility of presence of a antihypertensive active principle in this plant. Furthermore, the antidiabetic, hypolipemiant and antihypertensive profile of AEBU is associated to a direct protective effect on the endothelial function that are decreased in the diabetic vessels. Additionally, AEBU restored the decreased levels of urinary D-chiro-inositol in diabetic rats towards to normal levels, inducing a better insulin sensitivity profile. In conclusion, this is the first study to point a probable activity of a *Bauhinia* specie and to demonstrate its vasoprotective properties and action as a insulin sensitizer.



## ABSTRACT

### Antidiabetic activity of *Bauhinia unguolata*: Role of inositols components of the putative mediators of insuline action

Marta Regina Kerntopf Mendonça.

Mentor: Ph.D. Manassés Claudino Fonteles

Doctoral Thesis – UFC, 2004

*Bauhinia unguolata* (“Mororo”) is a *Caesalpinaceae* tree widely used in the popular medicine of Ceará, Brazil, as an hypoglicemiant agent. In this study, aqueous and ethanolic extracts from the leaves of this tree were evaluated in order to validate its reputed antidiabetic activity, to access its relative toxicity and to investigate inositols identified in this plant as possible active principles for the hypoglicemiant activity. The aqueous extract (AEBU) of *B. unguolata* was demonstrated to have hypoglicemiant activity by both oral and intravenous route. This extract was also show to be devoided of overt toxicity by the oral route. The acute hypoglicemiant effect by intravenous or oral administration were quite reproduced by the inositols (D-chiro-inositol or pinitol) identified in AEBU in enough amounts to be responsible for the observed effects. The ethanolic extract was show to have a more potent hypoglicemiant effect than AEBU, maybe by its higher content of inositols. AEBU also protected euglycemic rats against an oral glucose overload in a similar fashion as did glibenclamide, a conventional antidiabetic drug. On the other hand, AEBU also provided a good glycemic control for STZ-diabetic rats after 3 weeks oral administration. This later effect was followed by a better lipid profile with a lower atherogenic index. AEBU was also shown to have a direct hipolipemiant effect in a nice model of dyslipidaemia induced by tiloxapol. To better approach its general safety the effects on the mean arterial blood pressure (MAP) were studied and AEBU was shown to have hypotensive activity by means of a direct vasodilatory action on resistance vessels. This activity raises the possibility of presence of a antihypertensive active principle in this plant. Furthermore, the antidiabetic, hypolipemiant and antihypertensive profile of AEBU is associated to a direct protective effect on the endothelial function that are decreased in the diabetic vessels. Additionally, AEBU restored the decreased levels of urinary D-chiro-inositol in diabetic rats towards to normal levels, inducing a better insulin sensitivity profile. In conclusion, this is the first study to point a probable activity of a *Bauhinia* specie and to demonstrate its vasoprotective properties and action as a insulin sensitizer.



---

**INTRODUÇÃO**



## PREFÁCIO

A tese traduz uma grande soma de trabalho experimental cujo planejamento foi muito bem arquitetado com vista a avaliação da eficácia e a segurança do emprego medicinal de uma espécie da flora regional, usada como antidiabética pelo povo nordestino, o mororó-da-folha-de-ponta-fina ou pata-de-vaca do Nordeste, *Bauhinia unguolata* L.

A busca de comprovação experimental da ação antihyperglicemiante da planta; através dos inositóis cuja existência foi comprovada na planta uma idéia inovadora que obteve sucesso e cuja importância pode ser deduzida pela possibilidade, senão, obrigatoriedade da aplicação da metodologia desenvolvida, ao estudo de inúmeras outras plantas brasileiras usadas como antidiabéticas pelos usuários da medicina popular. Essa importância é acrescida com a descoberta de outra relevante propriedade farmacológica da planta: a atividade antihyperlipemiante.

Considero uma excelente tese, que certamente deverá ser utilizada como modelo para outras teses e dissertações neste ou em outros cursos de pós-graduação

Prof. Dr. Francisco José de Abreu Matos \*

\* Pesquisador da Universidade Federal do Ceará nas áreas de Química dos Produtos Naturais e Farmacognosia a mais de 40 anos, diretor e administrador do Laboratório de Produtos Naturais da UFC, coordenador e criador do Projeto Farmácias Vivas.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 Apresentação

Várias espécies de *Bauhinia*, planta da família *Leguminosae*, conhecidas popularmente em todo Brasil como pata-de-vaca e no Ceará como mororó {[Do tupi miroi'ró.] S. m. Bras. [*moró* (nutrir, alimentar) + *rô* (produzir)], BRAGA, 1976}, são extensamente utilizadas na medicina popular brasileira por sua atividade anti-diabética. Algumas delas foram avaliadas em experiências pré-clínicas e clínicas controladas (PEPATO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2002; LEMUS *et al.* 1999; ANJOS *et al.*, 1995, ROMAN *et al.*, 1995; ROMAN *et al.*, 1992, RUSSO *et al.*, 1990).

*Bauhinia unguolata* Lin. é uma espécie muito comum no Nordeste do Brasil especialmente no Estado do Ceará, não obstante, sua eficácia relativa e segurança como um agente hipoglicemiante oral ainda não foram estudadas. Por outro lado, o *diabetes mellitus* (DM) é uma doença epidêmica de caráter degenerativo e que onera o sistema americano de saúde em 90 bilhões de dólares/ano. Hipoglicemiantes orais fazem parte do arsenal terapêutico no curso do tratamento do diabetes tipo 2 e representam maior parcela do custo destes medicamentos (ZIMMET *et al.*, 2001). As plantas medicinais com atividade antidiabética são alternativas de baixo custo para utilização no sistema de saúde, após validação e determinação

de segurança (MATOS, 2000). Por sua vez, o diabetes, tanto por insuficiência pancreática como por resistência insulínica, cursa com disfunção vascular que precede as seqüelas macro e microangiopáticas, como, por exemplo, a doença arterial coronariana, retinopatia, nefropatia e neuropatia (BRONWLEE, 2001). Esta disfunção vascular refere-se ao desbalanço na produção de fatores vasorelaxantes antitrombóticos e anti-aterogênicos pelo endotélio no sentido de produzir fatores contraturantes, vasoconstritores e pró-agregantes e foi denominada disfunção endotelial (LÜDMER, 1986). O principal marcador de disfunção endotelial em seres humanos e animais é a resposta atenuada a agentes vasoativos que atuam apenas na presença de endotélio funcionalmente íntegro (FURCHGOTT e ZAWADZKI, 1980; LUDMER *et al.*, 1986; ABIRU *et al.*, 1990a; ABIRU *et al.*, 1990b). A atenuação do relaxamento endotélio-dependente tem sido observada em pacientes diabéticos (CALVER *et al.*, 1992; JOHNSTONE *et al.*, 1993) e em modelos animais de diabetes (FORTES *et al.*, 1983; DURANTE *et al.*, 1988; KAMATA *et al.*, 1989; COSTA e FORTI e FONTELES, 1998). A redução do relaxamento endotélio-dependente tem sido também relatada em anéis isolados de aorta de ratos com diabetes induzida por estreptozotocina (STZ) (KAMATA *et al.*, 1989; RODRIGRUEZ-MAÑAS *et al.*, 1998; HATTORI *et al.*, 1991) e em microvasos mesentéricos (LASH *et al.*, 1991; TAYLOR *et al.*, 1992) indicando que tanto vasos de condutância como vasos de resistência são

afetados por disfunção endotelial (DE). Um número limitado de estudos tem sido destinado ao mesentério e tem mostrado que a árvore vascular mesentérica sofre hipertrofia precedida por atenuação do relaxamento endotelial dependente no diabetes experimental (COOPER *et al.*, 1994; RUMBLE *et al.*, 1997).

Este trabalho doutoral representa um esforço no sentido de validar a atividade antidiabética da *Bauhinia unguolata* L. e estudar seu potencial vasoprotetor em modelos de disfunção endotelial em artérias de resistência (leito vascular mesentérico) e condutância (aorta torácica). Além do mais, avaliamos sua toxicidade aguda e sub-crônica em ratos e camundongos com estudo dos efeitos gerais e histopatológicos. Em adição avaliamos seu potencial antihipertensivo e seu mecanismo de ação vasodilatador, *in vivo* e *in vitro*. Outro aspecto de interessante estudo é a presença no material vegetal utilizado de inositóis como pinitol e D-quirositol (DCI) que são parte dos mediadores putativos da insulina. LARNER e HUANG (1999) demonstraram que estes compostos possuem atividade hipoglicemiante em faixas nanomolares quando administrados por via oral ou intravenosa. Comparamos em alguns experimentos agudos os efeitos de nossos extratos de *Bauhinia unguolata* com os prováveis princípios ativos pinitol e D-quirositol (DCI). A validação da atividade hipoglicemiante, antilipêmica, vasodilatadora desta planta é altamente

encorajadora tendo em vista que esta associada a efeito vasoprotetor direto na função endotelial. Uma vez que este fenômeno precede e acentua aqueles associados ao diabetes podemos vislumbrar um potencial terapêutico de preparações de fitoterápicos com base nesta espécie para o tratamento adjuvante desta síndrome.

## 1.2 *Diabetes mellitus* - generalidades

Fisiologicamente as taxas de glicose sérica oscilam entre valores próximos de 72 – 126 mg/dL, a não ser após as refeições e em período de jejum sendo este limite mantido pelo equilíbrio entre a produção de glicose hepática, absorção intestinal, captação e metabolismo nos tecidos (SALTIEL e KHAM, 2001).

A captação de glicose no músculo e adipócitos é grandemente aumentada pela translocação de GLUT-4 induzida por insulina, assim regulando as concentrações plasmáticas de glicose. Este hormônio, também incrementa a lipogênese, síntese protéica e glicogênese, além de inibir a lipólise, glicogenólise e proteólise (SALTIEL e KHAM, 2001).

A síndrome de resistência insulínica ou a deficiência na produção deste hormônio resultam em profunda desregulação desses processos com

elevação dos níveis de glicose e dislipidemia (BRUNING *et al.*; 1998; KULKARNI *et al.*, 1999 a e b)

O *Diabetes mellitus* (DM) é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade da insulina de exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas. As conseqüências do *Diabetes mellitus* a longo prazo incluem danos, disfunção e falência de vários órgãos, especialmente rins, olhos, nervos, coração e vasos sangüíneos. Com freqüência os sintomas clássicos (perda inexplicada de peso, polidipsia e poliúria) estão ausentes, porém poderá existir hiperglicemia de grau suficiente para causar alterações funcionais ou patológicas por um longo período antes que o diagnóstico seja estabelecido. Antes do surgimento de hiperglicemia mantida, acompanhada do quadro clínico clássico do *Diabetes mellitus*, a síndrome diabética passa por um estágio de distúrbio do metabolismo da glicose, caracterizado por valores glicêmicos situados entre a normalidade e a faixa diabética (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Na atualidade, a classificação do DM segue sob duas principais formas, a do tipo 1 que resulta da destruição da célula beta, geralmente ocasionando deficiência absoluta de insulina, possuindo natureza auto-

imune ou idiopática, num total de casos em torno de 5% a 10%, a forma em que é rapidamente progressiva é geralmente observada em crianças e adolescentes, podendo ocorrer em adultos. A forma lentamente progressiva, comumente ocorre em adultos, é referida como diabetes latente auto-imune do adulto e a do tipo 2 com uma variação com predominância de resistência insulínica com relativa deficiência de insulina a um defeito predominantemente secretório, com ou sem resistência insulínica. O diagnóstico em quase todos os casos, é feito a partir dos 40 anos de idade. Abrange 85% a 90% do total de casos. Anteriormente DM tipo 1 era denominado diabetes melito insulino dependente (IDDM) e do tipo 2 não insulino dependente (NIDDM), sendo ambos, na hodiernidade, abolidos (THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, 1997; ALBERTI e ZIMMET, 1998; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Existem, também, outros tipos específicos de DM, como por exemplo; ocasionados por defeitos genéticos funcionais das células beta, por defeitos genéticos na ação da insulina, por doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, induzidos por fármacos e agentes químicos, infecções, formas incomuns de diabetes imuno mediado e por outras síndromes genéticas geralmente associadas ao diabetes. Outra forma é o diabetes gestacional, onde ocorre a diminuição da tolerância à glicose,

possuindo magnitude variável e se diagnosticada pela primeira vez na gestação, podendo ou não persistir após o parto. Abrange os casos de DM e de tolerância à glicose diminuída detectados na gravidez (THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS, 1997; ALBERTI e ZIMMET, 1998; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; ATKINSON e EISENBARTH, 2001)

*Diabetes mellitus* é um importante problema de saúde pública uma vez que é freqüente e está associado a complicações que comprometem a produtividade, qualidade de vida e sobrevida dos indivíduos, além de envolver altos custos no seu tratamento. Medidas de prevenção do *Diabetes mellitus*, assim como das complicações, são eficazes em reduzir os impactos desfavoráveis sobre morbidade e mortalidade destes pacientes (ZIMMET, ALBERTI e SHAW, 2001).

Estudos epidemiológicos realizados no Brasil na década de 90, demonstraram que a faixa etária do *diabetes mellitus* está entre 30 e 69 anos, principalmente nas cidades industrializadas, onde 7,6 % da população apresenta tal patologia. Este estudo mostra que 5 milhões de pessoas têm *diabetes*, dentre as quais apenas aproximadamente 500 mil são do tipo I e o restante do tipo II. Como o diabetes pode aparecer e evoluir sem apresentar sintomas, cerca da metade destes brasileiros desconhecem que tem a

doença (Ministério da Saúde, 1988 - 1º Censo Nacional de *diabetes*). No mundo a estimativa global de pacientes diabéticos é de cerca de 150 milhões de indivíduos e deve crescer para 220 milhões em 2010 e 300 milhões em 2025 (AMOS, MACCARTHY e ZIMMET, 1997; KING, AUBERT e HERMAN, 1998).

O *diabetes mellitus*, no contexto da saúde pública, tem uma grande importância médico-econômico-social, esta doença como o diagnóstico primário de internação hospitalar aparece como a sexta causa mais freqüente e contribui de forma significativa (30% a 50%) para outras causas como cardiopatia isquêmica, insuficiência cardíaca, colecistopatias, acidente vascular cerebral e hipertensão arterial (SILVESTRE, 1997). Pacientes diabéticos representam cerca de 30% dos pacientes que se internam em unidades coronarianas intensivas com dor precórdica, sendo a principal causa de amputações de membros inferiores e cegueira adquirida (SPILCHLER *et al.*, 1998). Aproximadamente 26% dos pacientes que ingressam em programas de diálise são diabéticos (BRUNO, 2000). As doenças cardiovasculares são responsáveis por 1.150.000 das internações/ano, com um custo aproximado de 475 milhões de reais, sendo que nestes números não estão inclusos os gastos com procedimento de alta complexidade (BRASIL, 1988).

### 1.3. Angiopatia diabética

Entre as principais causas de morbi-mortalidade no curso do diabetes, estão as complicações cardiovasculares secundárias, a micro e macrovasculopatias; entre as anormalidades da microcirculação, incluem a retinopatia, nefropatia, além de contribuir para neuropatia (disfunção endotelial nas *vasa nervorum*).

No caso da macroangiopatia, anormalidades hemodinâmicas associada à aterosclerose com aumento de risco de infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Entre as causas de morte secundária o diabetes; 35% são devido à infarto do miocárdio e 22% a acidentes vasculares encefálicos (BRASIL, 1988).

Uma das principais causas subjacentes que precedem tanto a macro quanto a microangiopatia diabética é a desregulação do endotélio vascular, no que diz respeito às suas funções vasorelaxantes, antitrombótica, anticoagulante, antiadesiva, antiaterogênica e antiproliferativa (BROWNLEE, 2001). Essa desregulação denominada disfunção endotelial foi descrita por Lüdmer (LÜDMER *et al.*, 1986) em pacientes hipercolesterolemicos e posteriormente demonstrada em pacientes diabéticos (JONHSTONE *et al.*, 1993). A disfunção endotelial tem sido detectada classicamente através da diminuição do relaxamento

endotélio dependente quando comparado com pacientes controle de mesma faixa etária e sexo acompanhada de relaxamento normal para agonistas que agem diretamente no músculo liso vascular (HERMANN e LERMAN, 2001). Este fenômeno foi demonstrado em modelos animais de diabetes, tanto em vasos de condutância como de resistência (COSTA E FORTI e FONTELES, 1998; HATTORI *et al.*, 1991; TESHAMARIAN e COHENG, 1992; ÂNGULO *et al.*, 2003; NASCIMENTO *et al.*, 2003).

Uma propriedade interessante para uma droga no tratamento do diabetes tipo 2, além do efeito hipoglicemiante é a capacidade de prevenir ou atenuar a disfunção endotelial no paciente diabético.

Como exemplo a metformina, uma biguanidina utilizada no tratamento do diabetes tipo 2 foi demonstrada recentemente possuir propriedade vasoprotetora por melhorar a função endotelial (BRAME *et al.*, 2004).

Portanto, a validação de potenciais tratamentos alternativos, como plantas medicinais, deve, também, contemplar este aspecto, qual seja, de melhora da função endotelial.

#### 1.4. O tratamento do *diabetes* e da hipercolesterolemia com plantas medicinais

Mais de 1.200 espécies de plantas têm sido empregadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar os sintomas do *diabetes mellitus*. Estas espécies estão incluídas em mais de 725 gêneros de 183 famílias, que se estendem filogeneticamente desde as algas marinhas e fungos até as plantas superiores. Estas famílias englobam plantas largamente distribuídas geograficamente, com grandes distâncias filogenéticas, sugerindo a possibilidade de estudos tradicionais ou experimentais coincidentes e uma enorme variedade de princípios ativos (BAILEY e DAY, 1989). Assim sendo, enquanto estudos quimiotaxonômicos são freqüentemente úteis para a descoberta de novas plantas com constituintes biologicamente ativos, é necessário aprender mais sobre grupos particulares de produtos naturais hipoglicemiantes, como também, seus prováveis mecanismos de ação. BAILEY e DAY (1989), demonstraram que as plantas medicinais utilizadas no *diabetes mellitus*, apresentam um segundo alvo, as complicações diabéticas caracterizadas pela presença de manifestações sintomáticas como; polidipsia, polifagia e poliúria e doenças como: retinopatia, aterosclerose, nefropatia e impotência.

É importante considerar que a atividade hipoglicemiante de produtos naturais tem sido testada em seres humanos e em animais de experiência e as distinções nos diversos modelos experimentais empregados são importantes para a compreensão de seu mecanismo de ação (LUNDQUIST e RERUP, 1967; RERUP e TARDING, 1969; BELL e HYE, 1983)

#### *1.4.1. Mecanismo de ação dos constituintes hipoglicemiantes e hipolipemiantes de plantas medicinais*

Para compreender a ação hipoglicemiante e hipolipemiante dos constituintes de plantas, é interessante considerar as razões pelas quais os compostos com atividade hipoglicemiante e/ou hipolipemiante existem nos vegetais (SILVA *et al.*, 2002).

A glicose é a fonte de energia metabólica e o precursor biossintético mais importante nas plantas, ou seja, a glicose é armazenada e metabolizada sob controle hormonal em plantas, como também o é em animais. Sendo assim, com relação aos processos metabólicos celulares e moleculares, as plantas e os animais não são tão diferentes. Alguns reguladores do crescimento de plantas, por exemplo, apresentam atividade hipoglicemiante, com o ácido indol-3-acético e seus análogos naturais ou

sintéticos, tais como o ácido indol-3-butírico, o ácido indol-3-propiónico, o L-triptofano e o ácido *p*-clorofenoxiacético (MIRSKY *et al.*, 1956).

Outros compostos hipoglicemiantes encontrados em plantas incluem o ácido nicotínico, o ácido antranílico, inibidores de insulinase e o ácido salicílico, os quais atuam funcionando como inibidores do crescimento dos vegetais (BEVER e ZAHND, 1979). Portanto, constituintes que regulam o metabolismo das plantas, podem também regular o metabolismo animal, de diversas maneiras, dependendo de seu mecanismo de ação (ROBBERS, 1999).

Existem mais de 200 compostos puros, já identificados, produzidos por plantas, que apresentam atividade hipoglicemiante e/ou hipolipemiante, classificados como alcalóides, carboidratos, cumarinas, glicosídeos cianogênicos, flavonóides, glicopeptídios, sais inorgânicos, lipídios, peptídios e aminas, fenóis (simples), fenopropanóides, esteróis, compostos sulfurados, terpenóides, vitaminas e xantenol (BEVER, 1980; KHANNA *et al.*; 1981; IVORRA *et al.*, 1989; MOSSA e TARIQ, 1991)

A imensa variedade na natureza química destes compostos sugere a possibilidade de diversos mecanismos de ação hipoglicemiantes, dentre os quais encontram-se a diminuição da absorção de carboidratos, estímulo à

síntese ou secreção de insulina ou interferência na sua biotransformação, aumento da concentração ou afinidade dos receptores de insulina, ações periféricas no metabolismo dos carboidratos (como a inibição da gliconeogênese e o estímulo à glicogênese), efeito protetor sobre as células  $\beta$ , inibição das células  $\alpha$  das ilhotas de Langerhans, entre outros (MORRISON e WEST, 1982).

É fato que alguns destes compostos podem ter potencial terapêutico, enquanto outros podem produzir hipoglicemia, hepatotoxicidade e nefrotoxicidade, como um efeito colateral (NEAME e PILLAY, 1964; MARLES e FARNSWORTH, 1995).

Referindo-se especificamente à atividade hipolipemiante, dentre os compostos puros, já identificados, produzidos por plantas destacam-se: *beta*-caroteno, licopenos, cicloartenol, *beta*-sitosterol, saponinas, proteínas da soja, polissacarídeos, propionato, mevinolin, flavonóides, niacina, terpenóides, dentre outros (WANG *et al.*, 1999)

Diversas plantas são utilizadas pela população para o tratamento das hipercolesterolemias, sendo que algumas já foram pesquisadas, como é o caso do *Ruta graveolens* L.(arruda), a *Fucus vesiculosus* L. (fucus), a *Commiphora mukul* Engl. (gum-gugul), a *Catharanthus roseus*, L. (Boa

noite, Boa noite branca ou Bom dia), *Zingiber Officinale* Roscoe (gengibre), a *Ficus carica* L. (figo), *Terminlia chebula* Retz. e a *Achyranthes aspera* L. (carrapicho) (Kuppurajan, et al., 1978, TSI et al., 1994; MUKHERJEE et al., 1995; CHANDER et al., 1996).

As ações mais conhecidas de plantas com atividade hipolipemiante envolvem a inibição da biosíntese de colesterol, aumento da excreção fecal de ácidos biliares, estímulo à atividade da lectina colesterol-acil transferase plasmática, inibição da absorção de colesterol, assim como da HMG-CoA - redutase, aumento da síntese de HDL e do aumento do catabolismo do LDL e enzimas lipolíticas teciduais, entre outras (KHANNA et al., 1981; MUKHERJEE et al., 1995; CHANDER et al., 1996).

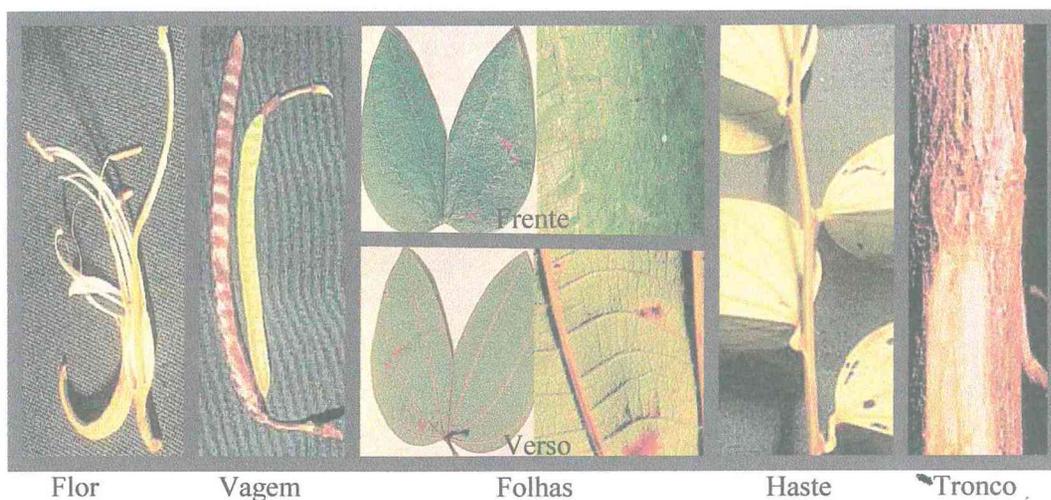
### 1.5. Considerações botânicas sobre *Bauhinia unguolata* - *Caesalpinaceae*

O gênero *Bauhinia* é pré-lineano, tendo sido descrito em 1703 por Charles Plumier. Este vocábulo genérico foi considerado uma homenagem aos irmãos Bauhin, John e Gaspar, famosos médicos botânicos do século XVI e é caracterizado pela forma das folhas bilobadas de suas espécies (FONSECA, 1978; OLIVEIRA et al., 2001).

O táxon *Bauhinia* foi bem aceito em todo século XVIII. Carolus Linnaeus o tornou válido já a partir de 1753 e descreveu oito espécies, das quais três pertencentes a flora do continente americano (FONSECA, 1978). Segundo CRONQUIST, (1981), as espécies de *Bauhinia* fazem parte da ordem *Fabales* e pertence à antiga família *Leguminosae/ Caesalpinoideae*, sendo uma das mais importantes famílias de plantas, cuja abrangência compreende aproximadamente 650 gêneros e 18.000 espécies distribuídas em três sub-famílias: *Mimosaceae*, *Caesalpinaceae* e *Fabaceae* (COWAN *et al.* 1981; WUNDERLIN, 1981).

Segundo BERG, (1982); HOLDRIDGE *et al.*; (1975) e MASÍS *et al.*, (1998), as espécies do gênero *Bauhinia*, apresentam-se como árvores, arbustos e cipós, com típicas folhas bifoliadas, paripeneadas, grandes, ramificadas, unijugadas, glabras, geminadas com os folíolos trinervados por vezes, estípulas estreitas e caducas. As flores são grandes, algumas semelhantes a uma orquídea; corola com cinco pétalas desiguais, androceu diplostêmone, às vezes com alguns estâmes reduzidos a estaminódios ou ausentes, gineceu com ovário unilocular com óvulos bisseriados, estiletos livres ou conscrecidos. Frutos do tipo vagem, chato, escuro e comprido, indescente ou deiscente, bivalvar, oblonga, com sementes, também, achatadas. A Figura 1 representa um exemplar de *Bauhinia unguolata*,

mostrando características morfológicas que evidencia aspectos das plantas deste gênero (MASÍS *et al.*, 1998).



**Figura 1.** Características morfológicas do gênero *Bauhinia*. Fonte: Adaptado de MASÍS *et al.*, 1998.

Segundo FONSECA, (1978); FORTUNATO, (1986); LEWIS, (1987) e OLIVEIRA *et al.*, (2001), foi possível compilar alguns dados sobre a posição botânica sistemática de *Bauhinia unguolata* Linnaeus, atendendo à determinação do código de taxonomia atual. Estas informações podem ser observadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Classificação taxonômica da *Bauhinia unguolata* Linnaeus.

Divisão:	<b>Angiospermae Brongniart</b> in A. Brongniart In Enum. Gen. ed. 2:26.1850
Classe:	<b>Dicotyledoneae DC</b> in A. P. de Candolle Syst Nat. 1:123.1817.
1ª sub classe:	<b>Archichlamydeae Engler</b> in A. Engler, In Engler et Prantl. Natürl Pflanzenf. Nachtr. ed. 1. 1(165): 344. 1897
Ordem:	<b>Rosales Lindley</b> in J. Lindley Nix. Pl. 21.1833
Sub ordem:	<b>Rosineae Engler</b> A. Engler in Engler et Plantl., Natürl. Pflanzef. Nachtr ed 1, 1 <sup>165</sup> : 349. 1897.
Família:	<b>Leguminosae (Fabaceae) Jussieu</b> in A. L. Jussieu Gen. Pl., ed. 1, 345. 1789
Sub família:	<b>Caesalpinioideae Brown</b> R. Brown in Tuckey, Narr. Exped. Congo 430. 1818.
Tribo:	<b>Cercideae (Brown) Wunderlin</b> in Phytologia 44: 325-7.1979.
Gênero:	<b>Bauhinia L.</b> in Sp. Pl. 1:374.1753.
Secção:	<b>Pauletia (Cav.) DC</b> in Prodr. 2:513.1825
Espécie:	<b>Bauhinia unguolata Linnaeus</b> <i>Species Plantarum</i> 1: 374. 1753. { <i>Sp. Pl.</i> } <i>Herb. Clifford 157, Bauhinia no. 3, (BM). LT designated by Wunderlin, Taxon 46(3): 466 (1997).</i>

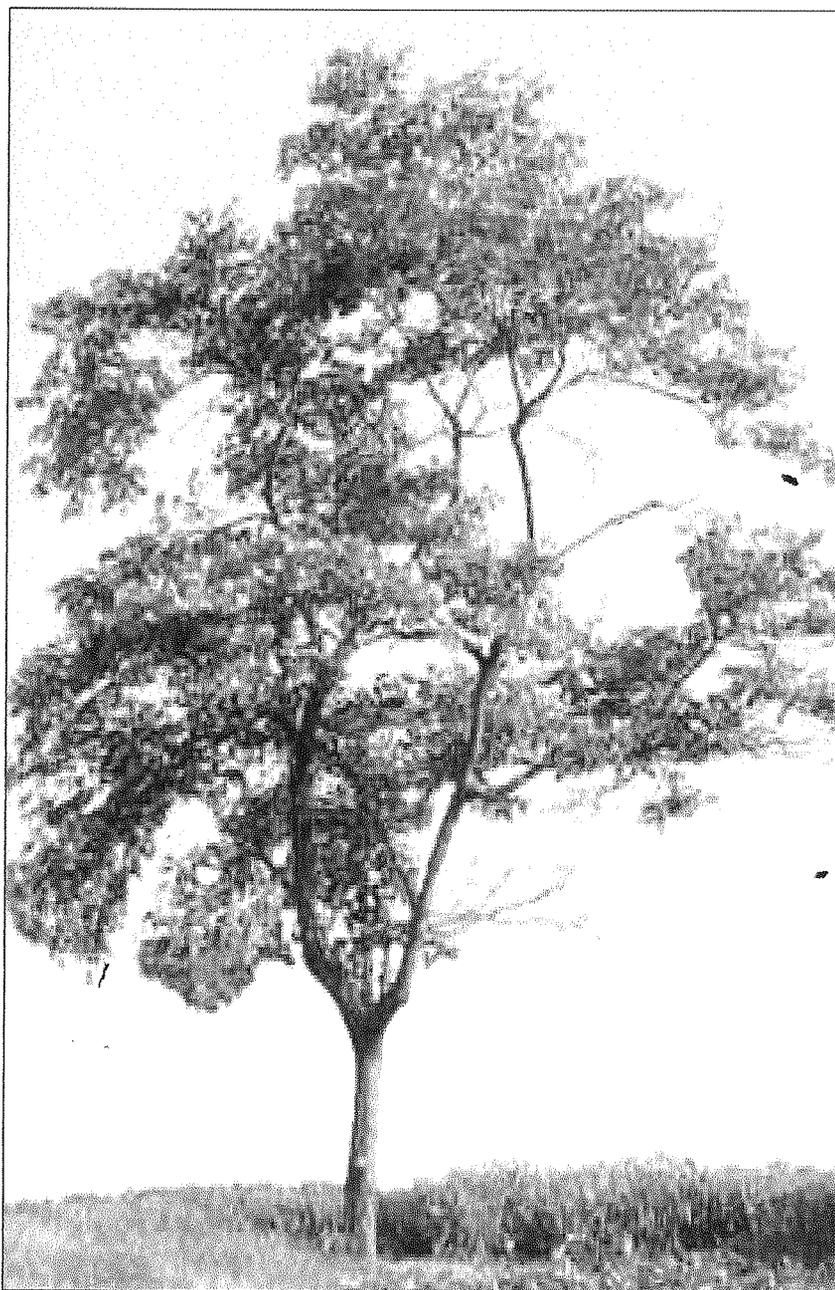
Fonte: (FONSECA, 1978; FORTUNATO, 1986; LEWIS, 1987; OLIVEIRA, *et al.*, 2001)

O gênero *Bauhinia* compreende cerca de 250 a 300 espécies, distribuídas pelas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo, especialmente na América e na África (LINNAEUS, 1959; FORTUNATO, 1986)

Os relatos de CRUZ, (1985) afirmam que as espécies de *Bauhinia* estão distribuídas por todo o território nacional e dentre todas as espécies distribuídas no mundo, 64 estão no Brasil (MARTIUS *et al.* 1870, ANGELI, 1969) em, valores até esta data.

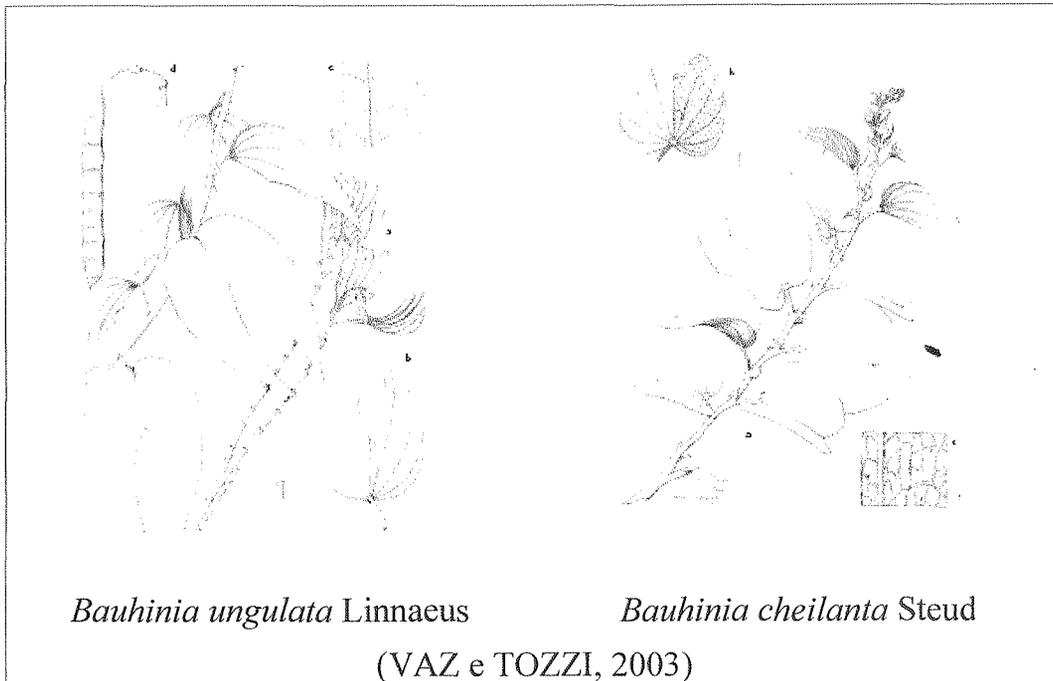
Segundo alguns autores (PEREIRA, 1929; COSTA, 1942; COSTA, 1945; CRUZ, 1979; LORENZI, 1982; PIO CORREA, 1984; FORTUNATO, 1986; LORENZI, 1992; CARVALHO, 1994; GUPTA, 1995; OLIVEIRA *et al.*, 2001, LORENZI, 2002), as sinonímias vulgares das plantas deste gênero em vários países são: *Caoba del pais*; *Casbá*; *Casco-de-vaca*; *Caubá*; *False Caobá*; *Mahogani*; *Mirroró*; *Mororó*; *Pata-de-boi*; *Pata-de-Buey*; *Pata-de-burro*; *Pata-de-cabra*; *Pata-de-chivo*; *Pata-de-toro*; *Pata-de-vaca*; *Pezuña-de-vaca*; *Polo buey*; *Toro-pó*; *Unha-de-anta*; *Unha-de-boi*; *Unha-de-boi-de-espinho*; *Unha-de-vaca*; e *Unha-de-veado*.

No Nordeste, especialmente no Ceará, as espécies mais comuns são *Bauhinia unguolata* Linnaeus (Figura 2), freqüente no litoral e *Bauhinia cheilanta* Steud, freqüente no sertão. A espécie mais rara no Nordeste é a *Bauhinia forficata* Link, o único tipo de mororó ou pata-de-vaca com espinhos e que ocorre nas serras frescas, podendo ser encontrada de forma mais abundante no sul do país. (LORENZI *et al.*, 2002). Na literatura citada, as três espécies são referidas com a sinonímia popular pata de vaca e/ou mororós, e usa o binômio *Bauhinia unguiculata* Baker ao invés de *B. unguolata* para esta espécie nordestina.



**Figura 2.** Espécime adulta de *Bauhinia unguolata* Linnaeus.

A espécie *ungulata*, termo que do latim significa casco bovino, tem folhas com os lóbulos de pontas agudas, no que difere da espécie *cheilanta* cujas folhas têm lóbulos arredondados (Figura 3).



**Figura 3.** Desenhos de *Bauhinia unguolata* Linnaeus e *Bauhinia cheilanta* Steud. Espécies de *Bauhinia* mais comuns no Nordeste do Brasil especialmente no Ceará.

A ilustração de uma fotocópia obtida, *in vivo*, de um exemplar de *Bauhinia unguolata* L., coletado no Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará, utilizado na preparação dos extratos referidos neste trabalho é representada na Figura 4, ao lado.



**Figura 4.** Fotocópia *in vivo* da espécie *Bauhinia unguolata* L.

## 1.6 *Bauhinias* -Súmula histórica e estado atual da arte

### 1.6.1 *Etnofarmacologia das espécies de Bauhinia*

O termo etnofarmacologia é utilizado para designar práticas médicas, especialmente remédios, usados em sistemas tradicionais de medicina (ELIZABETZKY, 1999).

Em concordância ao exposto acima, ALONSO, (2000) relata que antes da ciência conhecer as propriedades hipoglicemiantes de muitas espécies de plantas do gênero *Bauhinia*, os índios brasileiros, bem como os nativos de outros países sulamericanos já empregavam a infusão de folhas deste gênero de planta como cicatrizante, digestivo, expectorante, analgésico e antiinflamatório (ALONSO, 2000).

As folhas de *Bauhinia forticata* Link, um dos exemplares do gênero *Bauhinia* mais citados na tradição oral e escrita, foram caracterizadas por Martins, em 1854, como mucilaginosas e adstringentes, sendo aplicadas sob a forma de cataplasma, *clister*, gargarejo e emoliente (COSTA,1945).

Nas práticas caseiras da medicina popular da atualidade as folhas de plantas do gênero *Bauhinia* são utilizadas como antidiabéticas, diuréticas, hipocolesterolemiantes, sendo empregadas também, contra cistites, parasitoses intestinais e elefantíase (CORRÊIA *et al.*, 1998, MORS *et al.*, 2000; LORENZI *et al.*, 2002). Embora pouco se conheça a respeito da atividade farmacológica das plantas do gênero *Bauhinia* a partir de 1920, várias espécies passaram a ser mais freqüentemente estudadas quanto à sua possível ação hipoglicemiante, em razão do uso na medicina popular para o tratamento do diabetes, fato que persiste até os dias atuais (OLIVEIRA, 1986; ZANINI, 1995; TESKE, 1995; SILVA *et al.*, 2002).

#### 1.6.2 Formulações caseiras para o uso das plantas do gênero *Bauhinia*

O uso de plantas do gênero *Bauhinia* tem sido recomendado em vários programas de fitoterapia. Segundo MATOS (1998), para a preparação da infusão (chá) de plantas deste gênero, podem ser utilizadas folhas e cascas frescas ou secas; 10g do material seco devem ser submetidos ao fogo brando em 150 ml de água; o extrato obtido deve ser tomado em torno de 75 ml, duas vezes ao dia, modificando as dosagens conforme o resultado obtido.

OLIVEIRA *et al.* (1998), indicam o preparo da infusão das folhas de pata-de-vaca, com o uso de 5 folhas frescas da planta, cortadas em pedaços pequenos e mergulhadas em meio litro de água, sendo em seguida o material colocado ao fogo até levantar fervura, deixando por mais 3 minutos, o material deve ser resfriado até temperatura ambiente, onde o extrato obtido deverá ser tomado de 3 a 4 vezes ao dia. Controla a glicemia para aumentar e diminuir a dose e ajustá-la a cada caso.

### 1.6.3 Revisão sobre os estudos fitoquímicos de plantas do gênero *Bauhinia*

São 18 as espécies de *Bauhinia* referidas na literatura com o estudo da composição química: *Bauhinia candicans* Benth., *Bauhinia candida* Ait., *Bauhinia championii* Benth., *Bauhinia hupehara* Craib, *Bauhinia guianensis* Aubl., *Bauhinia megalandra* Griseb., *Bauhinia malabarica* Roxb, *Bauhinia manca* Standley, *Bauhinia purpúrea* L., *Bauhinia racemosa* Lam., *Bauhinia reticulata* DC., *Bauhinia rufescens* Lam., *Bauhinia splendens* Kunth Var. *latifolia* Benth., *Bauhinia thonningii* Schum., *Bauhinia tomentosa* L., *Bauhinia uruguayensis* Benth., *Bauhinia valhii* Wight et Arn. e *Bauhinia variegata* L. (RABATÉ *et al.*, 1938; FERREIRA *et al.*, 1963; IRIBARREN *et al.*, 1983; ANJANEYULU *et al.*, 1984; MAILLARD *et al.*, 1991; AZEVEDO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*,

2002; AZEVEDO *et al.*, 2003; PIZZOLATTI *et al.* 2003; REDDY *et al.*, 2003 e YADAVA *et al.*, 2003).

Dentre as espécies de *Bauhinia*, as mais estudadas fitoquimicamente foram: *Bauhinia manca* Standl., *Bauhinia candicans* Benth., *Bauhinia uruguayensis* Benth., *Bauhinia purpurea* L., *Bauhinia forficata* Link. e *Bauhinia splendens* Kunth Var. *latifolia* Benth. (RAMACHANDRAN *et al.* 1967; SHANI *et al.*, 1974; IRIBARREN *et al.*, 1987; WAHAB *et al.*, 1987; ACHENBACH *et al.*, 1988; VIJAYAKUMARI *et al.* 1997; AZEVEDO *et al.*, 2002 e PIZZOLATTI *et al.* 2003).

As informações resultantes da pesquisa mostraram presença principalmente de esteróides, terpenos e flavonóides; outros constituintes químicos encontrados são: cromonas, alcalóides, álcoois (D-pinitol), glicosídeos, naftoquinonas, taninos, aminoácidos, hormônio (insulina vegetal –glucocinina), estebenóides benzenóides, e lactonas. Apesar de muitos compostos serem quimicamente conhecidos, poucos estudos foram realizados sobre sua atividade farmacológica (RABATÉ, *et al.*, 1938; RAMACHANDRA *et al.*, 1954; FERREIRA *et al.*, 1963; RAHMAN *et al.*, 1966; DURET *et al.*, 1977; GUPTA *et al.*, 1980; IRIBARREN *et al.*, 1983; CHEN *et al.* 1985; ACHENBACH *et al.*, 1988; GONZALEZ-MUJICA,

2000; YADAVA *et al.*, 2000; AZEVEDO *et. al.*, 2003; PIZZOLATTI *et al.* 2003; REDDY *et al.*, 2003 e YADAVA *et al*, 2003).

As plantas selecionadas da literatura foram divididas e agrupadas em uma tabela, onde as linhas *achuriadas* indicam a espécie e as colunas os constituintes químicos isolados, sua classe química e as respectivas referências (Tabela 2).

**Tabela 2:** Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia candicans</i> Benth.</b>		
Sitosterol 3-O-a-D-riburonofuranosídeo	Esteróide	(IRIBARREN, 1985)
Trigonelina	Alcalóide	(SHANI <i>et al.</i> , 1974).
Sitosterol	Esteróide	(IRIBARREN <i>et al.</i> , 1983)
Campesterol	Esteróide	(IRIBARREN <i>et al.</i> , 1987)
Estigmasterol	Esteróide	
Coletol	Esteróide	
Estigmasterol-3,5-dieno-7-O-β-glucosídeo	Esteróide	
Sitosterol 3-O-α-xilurono-furanosídeo	Esteróide	
Kaempferol 3-O-β-rutinosídeo	Flavonóide	
7-O-α-rhamno-piranosídeo	Flavonóide	
Trigolelina	Alcalóide	
Triacontanol	Álcool	
3-O-metil-D-inositol (D-pinitol)	Poliálcool	
<b><i>Bauhinia candida</i> Ait.</b>		
Rutina	Flavonóide	(WAHAB <i>et al.</i> 1987)
Quercetina	Flavonóide	
Quercitrina	Flavonóide	
Apigenina	Flavonóide	
Apigenina 7-O-glucosídeo	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia championii</i> Benth.</b>		
Acido gálico	Benzenóide	(CHEN <i>et. al.</i> 1985).
Bouhinina	Glicosídeo	
<b><i>Bauhinia forficata</i> Link.</b>		
β-sitosterol	Esteróide	(PIZZOLATTI <i>et al.</i> 2003)
kanferol	Flavonóide	
3,7-di-O-α-L-ramnopiranosilkanferol	Flavonóide	
3,7-di-O-α-L-ramnopiranosilquercetina	Flavonóide	
3-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)-α-L-ramnopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosilkanferol	Flavonóide	
3-O-[β-D-glucopiranosil-(1→6)-α-L-ramnopiranosil]-7-O-α-L-ramnopiranosilquercetina	Flavonóide	
O glicosídeo 7-O-α-L-ramnopiranosilkanferol (2)	Flavonóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia forficata</i> Link.</b>		
Kaempferitrina	Flavonóide	(SILVA <i>et al.</i> , 2000)
Kaempferol-3-O- $\alpha$ -Diraminosídeo	Flavonóide	
Sitosterol	Esteróide	
Insulina vegetal –glucocinina	hormônio	(AZEVEDO <i>et al.</i> , 2002)
<b><i>Bauhinia guianensis</i> Aubl.</b>		
Sitosterol	Esteróide	(VIANA <i>et al.</i> , 1999)
Estigmasterol	Esteróide	
4-hidroxi-7-metoxiflavona	Flavonóide	
Lapachol	Naftaquinona	
Di-hidro- $\alpha$ -lapachona	Naftaquinona	
<b><i>Bauhinia hupehara</i> Craib.</b>		
5,7-dihidroxicromona	Cromona	(TANG <i>et al.</i> , 1992)
Aromadendrina	Flavanonol	
Dihidroquercetina	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia malabarica</i> Roxb.</b>		
Glicosídeo querctol	Flavonóide	(DURET <i>et al.</i> , 1977)
Quercitrosídeo	Flavonóide	
Rutosídeo	Flavonóide	
Taxifolina ramnosídeo	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia manca</i> Standley</b>		
$\beta$ -sitosterol	Esteróide	(ACHENBACH <i>et al.</i> , 1988)
$\beta$ -sitosterol-3-O- $\beta$ -D <sub>7</sub> -glucosídeo	Esteróide	
Estigmasta-4-eno-3- $\beta$ -ona	Esteróide	
Estigmasta-4-eno-3-diona	Esteróide	
Ácido cinâmico	Benzenóide	
Cinamoil- $\beta$ -D-glucose	Benzenóide	
$\beta$ -D-glucosídeo	Benzenóide	
Ácido gálico	Benzenóide	
Galato de metila	Benzenóide	
Éster metílico do ácido 4-hidroxi-2-metoxibenzóico	Benzenóide	
Éster metílico do ácido 4-hidroxi-3-metoxibenzóico	Benzenóide	
Éster metílico do ácido 3,4-metoxibenzóico	Benzenóide	
Éster metílico do ácido 3,4-dihidroxibenzóico	Benzenóide	
$\omega$ -hidroxipropioguaiacona	Benzenóide	
Siringaresinol	Benzenóide	
(7S,8R,8'R)-5,5'-dimethoxilariciresinol	Benzenóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia manca</i> Standley</b>		
(ACHENBACH <i>et al.</i> , 1988)		
(2S)-liquiritigenina 7-metoxi	Flavonóide	
(2S)-liquiritigenina 4-metoxi	Flavonóide	
(2S)-7,4-Di-hidroxi flavona	Flavonóide	
(2S)-7,3-Dimetoxi-4-hidroxi flavona	Flavonóide	
(2S)-3,4-Dimetoxi-7-hidroxi flavona	Flavonóide	
(2S)-7,4-Dimetoxi-3-hidroxi flavona	Flavonóide	
7,3'-dimetil-oxi-4'-hidroxi flavona	Flavonóide	
3',4'-dihidroxi-7-metoxi flavona	Flavonóide	
Isoliquiritigenina 4-metil éter	Flavonóide	
Liquiritigenina 4'-metil éter	Flavonóide	
2,4'-dihidroxi-4-metoxidihydrochalcona	Flavonóide	
Lignana	Flavonóide	
Apigenina	Flavonóide	
Chrisoeriol	Flavonóide	
Luteolina 5,3-dimetoxi	Flavonóide	
Kaempferol	Flavonóide	
Isoliquiritigenina	Flavonóide	
Isoliquiritigenina 2-metoxi	Flavonóide	
Isoliquiritigenina 4-metoxi	Flavonóide	
Echinatina	Flavonóide	
2,4-di-hidroxi-4-metoxi-dihydrochalcona	Flavonóide	
(2S)-narigenina	Flavonóide	
(2S)-criodictiol	Flavonóide	
Éster metílico do ácido (E) 4-hidroxicinâmico	Flavonóide	
Éster metílico do ácido (E) 4-hidroxi-3-metoxicinâmico	Flavonóide	
(2S,3R) 3-O-galoilepicatequina	Tanino	
Obtustireno	Estebenóide	
5,7-di-hidroxicromona	Cromona	



**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia megalandra</i> Griseb.</b>		
5,7,5'-tri-hidroxi-2'-O-ramnosil-flavona	Flavonóide	(GONZALEZ-MUJICA, 2000)
5,7,5'-tri-hidroxi-5'-O-ramnosil-flavona	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia purpurea</i> L.</b>		
Isoquercitrina	Flavonóide	(YADAVA <i>et al.</i> , 2000).
Quercetina	Flavonóide	
Astragalina	Flavonóide	
5,6-di-hidroxi-7-metoxi-flavona-6-O- $\beta$ -D-xilopiranosídeo	Flavonóide	
Ácido aspártico	Aminoácido	(VIJAYAKUMARI <i>et al.</i> 1997)
Treonina	Aminoácido	
Serina	Aminoácido	
Ácido glutâmico	Aminoácido	
Prolina	Aminoácido	
Glicina	Aminoácido	
Alanina	Aminoácido	
Valina	Aminoácido	
Metionina	Aminoácido	
Isoleucina	Aminoácido	
Leucina	Aminoácido	
Tirosina	Aminoácido	
Fenilalanina	Aminoácido	
Histidina	Aminoácido	
Cisteína	Aminoácido	
Lisina	Aminoácido	
Triptofano	Aminoácido	
Isoquercitrina	Flavonóide	(RAMACHANDRAN <i>et al.</i> 1967)
Quercetina	Flavonóide	
Kacmpferol-3-glucosídeo	Flavonóide	
Pelargonidina 3-glucosídeo	Antocianina	(TIWARI <i>et al.</i> , 1978)
Pelargonidina 3-triglucosídeo	Antocianina	
Rutina	Flavonóide	(WAHAB <i>et al.</i> , 1987)
Quercetina	Flavonóide	
Quercitrina	Flavonóide	
Apigenina	Flavonóide	
Apigenina 7-O-glucosídeo	Flavonóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia racemosa</i> Lam.</b>		
Sitosterol 3-O- $\alpha$ -D-riburonofuranosídeo	Esteróide	(SILVA <i>et al.</i> , 2002)
Pacharina	Cromona	
Racemosol	Cromona	
Des-O-metilracemosol	Cromona	
octacosano	Alcano	(ANAND <i>et al.</i> , 1976)
$\alpha$ -sitosterol	Esteróide	
$\beta$ -amirina	Esteróide	
Resveratrol	Flavonóide	(ANJANEYULU <i>et al.</i> , 1984)
Pacharina	Cromona	
Racemosol	Cromona	(ANJANEYULU <i>et al.</i> , 1986)
<b><i>Bauhinia reticulata</i> DC.</b>		
L-tartaric	Aminoácido	(RABATÉ <i>et al.</i> , 1938)
Quercetina	Flavonóide	
L-tartaric	Aminoácido	
Quercitrina	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia rufescens</i> Lam.</b>		
5,6-di-hidro-11-metoxi-2,2,12-trimetil-2H-nafto-[1,2- $\xi$ ][1]-benzopirano-8,9-diol	Estebenóide	(MAILLARD <i>et al.</i> , 1991)
1-metoxi-2,2,12-trimetil-2H-nafto-[1,2- $\xi$ ][1]-benzopirano-8,9-diol	Estebenóide	
1,7,8,12b-tetra-hidro-2,2,4-trimetil-2H-benzo-[6,7]-ciclo-hepta-[1,2,3-de][1]benzopirano-5,10,11-triol	Estebenóide	
11-metoxi-2,2,12-trimetil-2H-nafto-[1,2- $\xi$ ][1]-benzopirano-8,9-diol	Estebenóide	
<b><i>Bauhinia splendens</i> Kunth Var.</b>		
Bauspendina (7-metoxi-5,6,3',4'-dimethilenodioxiflavona)	Flavonóide	(LAUX <i>et al.</i> , 1985)
Quercetina	Flavonóide	
Rutina	Flavonóide	
Sitosterol	Esteróide	
Stigmasterol	Esteróide	
Ácido esteárico	Ácido graxo	
Galato de cila	Benzonóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia thonningii</i> Schum.</b>		
Grifonilida	Lactona	OKWUTE, <i>et al.</i> , 1986)
Sucralose (triclorigalacto –sacarose)	Álcool	(FERREIRA <i>et al.</i> , 1963)
Tanino pirocatéquico	Flavonóide	
Ácido tartárico	Aminoácido	
Rhamnitol	Poliálcool	
Grifonilida	Lactona	
Rutina	Flavonóide	(RAMACHANDRA <i>et al.</i> , 1954)
Quercetina	Flavonóide	
Isoquercetina	Flavonóide	
<b><i>Bauhinia uruguayensis</i> Benth.</b>		
Estigmasta-1,3,5-trieno	Esteróide	(IRIBARREN <i>et al.</i> , 1989)
Estigmasta-1.3.5-dieno	Esteróide	
Campesterol	Esteróide	
Estgmasterol	Esteróide	
Sitosterol	Esteróide	
Estigmasta-4,6-dien-3-ona	Esteróide	
Sitosterol-3-O- $\alpha$ -D-riburono-furanosídeo	Esteróide	
Sitosterol-3-O- $\beta$ -D- xilopiranosídeo	Esteróide	
Sitosterol-3-O- $\alpha$ -D- xilopiranosídeo	Esteróide	
Sitosterol-3-O- $\beta$ -D- glucopiranosídeo	Esteróide	
Quercetina-3-O- $\alpha$ -L- ramnopiranosídeo	Flavonóide	
Kacmpferol-3-O- $\alpha$ -L- ramnopiranosídeo	Flavonóide	
Ácido aspártico	Aminoácido	
Trconina	Aminoácido	
Serina	Aminoácido	
Serina	Aminoácido	
Ácido glutâmico	Aminoácido	
Prolina	Aminoácido	
Glicina	Aminoácido	
Alanina	Aminoácido	
Valina	Aminoácido	
Metionina	Aminoácido	
Isoleucina, leucina	Aminoácido	
Tirosina	Aminoácido	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia uruguayensis</i> Benth.</b>		
Fenilalanina	Aminoácido	(IRIBARREN <i>et al.</i> , 1989)
Histidina	Aminoácido	
Colina	Aminoácido	
Hidrocarbonetos	Hidrocarboneto	
Álcoois lineares	Álcoois lineares	
<b><i>Bauhinia valhii</i> Wight et Arn</b>		
glicosídeo quercetol	Flavonóide	(DURET <i>et al.</i> , 1977)
Quercitrosídeo	Flavonóide	
Rutosídeo	Flavonóide	
Taxifolina ramnosídeo	Flavonóide	
Kaempferol	Flavonóide	
Quercetina	Flavonóide	
Agathisflavona	Flavonóide	
Campesterol	Esteróide	
Estigmasterol	Esteróide	
Sitosterol	Esteróide	
Ácido betulínico	Triterpenóide	
<b><i>Bauhinia variegata</i> L.</b>		
Kaempferol-3-rhamnoglucosídeo	Flavonóide	(RAHMAN <i>et al.</i> , 1966)
Glicosídeo quercetol	Flavonóide	(DURET <i>et al.</i> , 1977)
Quercitrosídeo	Flavonóide	
Rutosídeo	Flavonóide	
Taxifolina ramnosídeo	Flavonóide	
Kaempferol	Flavonóide	
Glicosídeo miricetol	Flavonóide	
$\beta$ -sitosterol	Esteróide	(GUPTA <i>et al.</i> , 1980)
Lupeol	Triterpenóide	
5,7-dimetoxiflavona	Flavonóide	
4' $\alpha$ -L-ramnopiranosil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo	Flavonóide	
Kaempferol-3-galactosídeo	Flavonóide	(GUPTA <i>et al.</i> , 1984)
Kaempferol-3-galactosídeo	Flavonóide	
Kaempferol-3-ramno-glucosídeo	Flavonóide	
Narignina-5,7-dimetoxi-4-ramnoglucosídeo	Flavonóide	
Sitosterol	Esteróide	
Lupeol	Triterpenóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<b><i>Bauhinia uruguayensis</i> Benth.</b>		
Fenilalanina	Aminoácido	(IRIBARREN <i>et al.</i> , 1989)
Histidina	Aminoácido	
Colina	Aminoácido	
Hidrocarbonetos	Hidrocarboneto	
Álcoois lineares	Álcoois lineares	
<b><i>Bauhinia valhii</i> Wight et Arn</b>		
glicosídeo quercetol	Flavonóide	(DURET <i>et al.</i> , 1977)
Quercitrosídeo	Flavonóide	
Rutosídeo	Flavonóide	
Taxifolina ramnosídeo	Flavonóide	
Kaempferol	Flavonóide	
Quercetina	Flavonóide	
Agathisflavona	Flavonóide	
Campesterol	Esteróide	
Estigmasterol	Esteróide	
Sitosterol	Esteróide	
Ácido betulínico	Triterpenóide	
<b><i>Bauhinia variegata</i> L.</b>		
Kaempferol-3-rhamnoglucosídeo	Flavonóide	(RAHMAN <i>et al.</i> , 1966)
Glicosídeo quercetol	Flavonóide	(DURET <i>et al.</i> , 1977)
Quercitrosídeo	Flavonóide	
Rutosídeo	Flavonóide	
Taxifolina ramnosídeo	Flavonóide	
Kaempferol	Flavonóide	
Glicosídeo miricetol	Flavonóide	
$\beta$ -sitosterol	Esteróide	(GUPTA <i>et al.</i> , 1980)
Lupcol	Triterpenóide	
5,7-dimetoxi flavona	Flavonóide	
4' $\alpha$ -L-ramnopiranosil- $\beta$ -D-glucopiranosídeo	Flavonóide	
Kaempferol-3-galactosídeo	Flavonóide	(GUPTA <i>et al.</i> , 1984)
Kaempferol-3-galactosídeo	Flavonóide	
Kaempferol-3-ramno-glucosídeo	Flavonóide	
Narigenina-5,7-dimetoxi-4-ramnoglucosídeo	Flavonóide	
Sitosterol	Esteróide	
Lupcol	Triterpenóide	

**Tabela 2:** (Continuação) Espécies do gênero *Bauhinia* com constituintes químicos isolados, classes químicas destes compostos e respectiva referência bibliográfica

CONSTITUINTE QUÍMICO	CLASSE QUÍMICA	REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA (Autor, ano)
<i>Bauhinia variegata</i> L.		
Rutina	Flavonóide	(WAHAB <i>et al.</i> , 1987)
Quercetina	Flavonóide	
Quercitrina	Flavonóide	
Apigenina	Flavonóide	
Apigenina 7-O-glucosídeo	Flavonóide	
(2S)-5,7-dimethoxy-3',4'-methylenedioxi-flavanon	Flavonóide	(REDDY <i>et al.</i> , 2003)
5,6-dihydro-1,7-dihydroxy-3,4-dimethoxy-2-methyl-dibenz flavonoids (3-5).	Dihidrodibenzo xopirano	
5,7,3',4'-tetrahidroxi-3-methoxi-7-O- $\alpha$ -L-rhamnospiranosila	Benzoxopirano	(YADAVA <i>et al.</i> , 2003)
Insulina vegetal – Glucocinina	Hormônio	(AZEVEDO <i>et. al.</i> , 2003)

#### 1.6.4 Dados farmacológicos sobre as plantas do gênero *Bauhinia* e/ou substâncias químicas delas isoladas

Em relação aos aspectos farmacológicos foi possível relacionar as 17 espécies referidas a seguir: *Bauhinia forficata* Link; *Bauhinia bauhinioides* Mart.; *Bauhinia candicans* Benth.; *Bauhinia cheilanta* Steud.; *Bauhinia divaricata* L; *Bauhinia guianensis* Aubl.; *Bauhinia manca* Standley; *Bauhinia megalandra* Griseb; *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr.; *Bauhinia monandra* Kurz; *Bauhinia purpurea* L.; *Bauhinia racemosa* Lam.; *Bauhinia rufescens* Lam.; *Bauhinia splendens* Kunth Var. *latifolia* Benth.; *Bauhinia tarapotensis* Benth.; *Bauhinia unguolata* L. e *Bauhinia variegata* L. (PIO CORREIA, 1984; MAILLARD *et al.*, 1991; ANJOS *et al.*, 1994; WAZLAWIK *et al.*, 1994; AKHTAR *et al.*, 1995; CECHINEL FILHO *et al.*, 1995; MORAIS *et al.*, 1996; TAYLOR *et al.*, 1996; SAVI *et al.*, 1997; WILLAIN FILHO *et al.*, 1997; PANDA *et al.*, 1999; CECHINEL FILHO, 2000; MINTO *et al.*, 2000; PIZZA *et al.*, 2001).

*Bauhinia forficata* Link. é a espécie que apresenta maior número de estudos quanto à atividade hipoglicemiante. Muitos trabalhos apareceram na literatura desde 1929, influenciados pelo entusiasmo da pesquisadora Carmela Juliani que colocou este gênero em evidência

relacionando-o à ação hipoglicemiante, com o artigo intitulado; "*The hypoglycemic action of unha de vaca*", publicado na Revista de Medicina, *Pharmacia, Chimica e Physica*, em 1929. (JULIANI, 1929) indexado ao *Chemical Abstract* 25:4622. (COSTA, 1945).

Segundo JULIANI, (1929); JULIANI, (1941) e COSTA, (1945), em estudos pré-clínicos e clínicos, o extrato aquoso de *Bauhinia forficata* Link. deve ser administrado, não só no tratamento do diabetes, mas também nos distúrbios endócrinos relacionados à doença.

ALMEIDA, (1984) em estudo, com o extrato etanólico bruto da casca de *Bauhinia forficata* Link. em ratos albinos, administrado por via oral, em testes de administração crônica, revelou leve ação hipoglicemiante. PEPATO *et al.*, (1998), analisaram os resultados da administração oral crônica com o decocto da planta em ratos diabéticos, onde verificaram melhoria no metabolismo dos carboidratos através de dos menores níveis de glicemia e glicosúria.

RUSSO *et al.*, 1990 demonstraram, entretanto, que a infusão preparada com as folhas de *Bauhinia forficata* Link. não apresentaram efeito hipoglicemiante em pacientes com glicemia normal e em pacientes com diabetes tipo II, assim como DAMASCENO *et al.* (2000), verificaram

que o extrato alcoólico de folhas desta planta não reduziu a concentração da glicose em ratos diabéticos induzidos pela estreptozotocina. Contraditoriamente aos efeitos hipoglicemiantes da planta registrados na literatura.

Os resultados discrepantes, relatados por estes autores, podem ser devido a vários aspectos não levados em consideração nestas investigações, como os fatores ambientais (tipo de solo, clima, etc.) e sazonais (CECHINEL FILHO, 2000).

Os extratos hexânico, diclorometanóico e acetato de etila obtidos de folhas, caules e cascas de *Bauhinia forficata* Link. foram testados contra fungos e leveduras patogênicos. Para a realização dos testes antifúngicos através da diluição em ágar, concentrações de até 1000 µg/ml foram incorporadas nos meios de crescimento. Os resultados mostraram que nenhum dos extratos testados apresentou atividade contra leveduras (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*), *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus niger* cujas concentrações inibitórias mínimas foram acima de 1000 µg/ml. Por outro lado, diferentes resultados foram obtidos nos testes dos extratos de *Bauhinia forficata* Link contra dermatófitos (SILVA, 1999).

O extrato de acetato de etila dos caules de *Bauhinia forficata* Link. mostrou-se moderadamente ativo contra *Epidermophyton floccosum*, com concentração inibitória mínima de 750 µg/ml, assim como os extratos hexânicos das cascas, os quais foram ativos contra *Microsporum canis*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum* e *Epidermophyton floccosum* com concentração inibitória mínima <1000µg/ml para todas as espécies fúngicas estudadas. O extrato de diclorometano das cascas apresentou o melhor resultado antifúngico, sendo ativo contra *Trichophyton rubrum* e *Epidermophyton floccosum* com concentração inibitória mínima de 500 µg/ml (SILVA, 1999).

SOUZA *et al.*, (2000) avaliaram a atividade antimicrobiana dos extratos e frações da *Bauhinia forficata* Link. e *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr. através do método de difusão radial em ágar, observando que somente uma fração da *Bauhinia forficata* Link. inibiu o crescimento da *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* na concentração de 1000 µg/ml. A espécie *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr. não apresentou atividade antimicrobiana.

A espécie *Bauhinia forficata* Link. foi avaliada através do teste geral de atividades (TGA), sendo que se observou uma intensa diurese após dez minutos de administração do extrato bruto da tintura, denotando sua ação diurética. Com relação aos efeitos sobre a musculatura lisa e S.N.C., concluiu-se que somente em doses acima de 2,7 g/kg, evidenciam-se tais efeitos. Quanto à toxicidade aguda, observou-se que o extrato bruto da planta provocou morte em 50% dos animais na dose de 2,85 g/kg, quando administrado por via intraperitoneal. Nas doses de 0,5 a 5,0 g/kg administrados por via oral, o extrato bruto não apresentou qualquer efeito tóxico. A ação antiinflamatória do extrato bruto de *Bauhinia forficata* Link. foi verificada, a partir da atividade antiedematogênica, associada à ação analgésica periférica (LUZ *et al.*, 1996; LINO *et al.*, 2002)

Inibidores de tripsina foram purificados do extrato salino de sementes de *Bauhinia bauhinoides* Mart. através de uma coluna cromatográfica de troca iônica. Dessa planta foram isolados os inibidores BbTI-I e BbTI-II. Este último, inibe a kaliceína pancreática, hidrolisando os aminoácidos H-Pro-Phe-Arg-ACM (OLIVA, 1999).

A infusão a 20% das folhas secas de *Bauhinia candicans* Benth., reduziu em 39% a glicemia induzida pela aloxana, em ratos (LEMUS *et al.*,

1999) estando este efeito relacionado à presença do alcalóide trigonelina (SHANI *et al.*, 1974).

O extrato metanólico da *Bauhinia cheilanta* Steud. apresentou efeito hipoglicemiante na dose de 600 mg/kg em ratos diabéticos por aloxana (150 mg/kg, i.p), (ALMEIDA *et al.*, 1997).

O estudo farmacológico do decocto obtido das folhas de *Bauhinia divaricata* L. apresentou moderado efeito hipoglicemiante em coelhos normais (RAMOS *et al.*, 1992).

Extratos obtidos da casca do caule de *Bauhinia guianensis* Aubl. apresentaram atividade antiinflamatória em modelo de edema de pata de rato, induzido pela carragenina, dextrana e histamina, além de efeito analgésico no modelo de contorções abdominais induzidas pela ácido acético em camundongos (CARVALHO *et al.*, 1999).

MUÑOZ *et al.*, (2000) estudaram trinta espécies de plantas tradicionalmente usadas na Bolívia contra os males associados à malária e testaram seus extratos frente à atividade antimalárica. Dentre estas espécies destacou-se a *Bauhinia guianensis* Aubl., a qual apresentou bons

resultados, atuando principalmente para amenizar os sintomas pertinentes a esta doença.

Substâncias químicas isoladas da *Bauhinia manca* Standley apresentaram significativa atividade antifúngica contra as espécies *Botrytis cinerea*, *Claviceps viridis*, *Coprinus cinereus*, *Rhizoctonia solani* e *Saprolegnia asterophora*. As substâncias com maior atividade foram (2S)-7,4-di-hidroxi-flavona, (2S)-4-hidroxi-7-metoxi-flavona, (2S)-7,3-dimetoxi-4-hidroxi-flavona e (2S)-4-acetoxi-7,3-dimetoxi-flavona (ACHENBACH, *et al.*, 1988).

Recentemente GONZALEZ-MUJICA *et al.*, (1998) relataram que o extrato aquoso obtido de folhas de *Bauhinia megalandra* Griseb causou inibição da glicose-6-fosfatase, enzima que pode ser de utilidade no controle da hiperglicemia presente no diabético. Este efeito parece estar relacionado, pelo menos parcialmente, com a presença dos flavonóides; 5,7,5'-tri-hidroxi-2'-O-ramnosil-flavona e 5,7,5'-tri-hidroxi-5'-O-ramnosil-flavona. (GONZALEZ-MUJICA, 2000).

SILVA, *et al.*, (2001) avaliaram o efeito antinociceptivo e anti-hiperalgésico do extrato hidroalcoólico obtido de partes aéreas de *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr. nos modelos de dor induzida pela injeção

intraplantar de capsaicina e intraperitoneal de ácido acético em camundongos e na hiperalgesia induzida pela injeção intraplantar de diversos agentes flogísticos, como a carragenina, bradicinina, capsaicina, substância P e adrenalina. O extrato obtido de *Bauhinia microstachya* (Raddi) J.F. Macbr. apresentou significativo efeito antinociceptivo quando analisado na nocicepção química induzida pela capsaicina e pelo ácido acético em camundongos. Além disso, o extrato desta planta também apresentou importante redução da hiperalgesia induzida por carragenina, bradicinina, capsaicina, substância P e adrenalina em ratos, substâncias estas envolvidas na transmissão da dor.

A *Bauhinia monandra* Kurz. foi avaliada por ANJOS *et al.* (1994) como possível hipoglicemiante, através do método Glicose-Oxidase. Neste estudo, observou-se que o extrato hidroalcoólico (500 mg/Kg, v.o.) apresenta ação hipoglicemiante, maior que a insulina, após 4 h. Recentemente, MINTO *et al.*, (2000) confirmaram a ação antidiabética desta planta, demonstrando que o chá das folhas secas (10%) reduz significativamente o nível glicêmico em camundongos, cujo efeito é observado até 6 h após a administração do chá.

A administração diária do extrato das cascas de *Bauhinia purpurea* L. (2,5 mg/kg i.p.) em ratos *Wistar* fêmeas com disfunção

tiroidiana revelou que esta planta foi capaz de aumentar a atividade da glicose-6-fosfatase, assim como apresentou efeitos antiperoxidativos, indicado pela diminuição da peroxidação lipídica hepática e aumento da atividade enzimática antioxidante. Assim, concluiu-se que esta planta tem o potencial de estimular a função tiroidiana de ratos fêmeas (PANDA *et al.*, 1999).

A atividade antiulcerogênica do extrato metanólico de brotos de flores de *Bauhinia racemosa* Lam. foi estudado em ratos através da indução de úlceras gástricas com ácido acetil salicílico, as quais foram significativamente reduzidas pelo emprego do extrato desta planta (AKHTAR *et al.*, 1995).

O extratos de diclorometano, obtido a partir de cascas de *Bauhinia rufescens* Lam., apresentou atividade antifúngica contra a espécie *Cladosporium cucumerinum*. As análises fitoquímicas com esta planta permitiram o isolamento de quatro novos compostos tetracíclicos antifúngicos; 5,6-di-hidro-11-metoxi-2,2,12-trimetil-2H-nafto[1,2- $\epsilon$ ][1]-benzopirano-8,9-diol; 11-metoxi-2,2,12-trimetil-2H-nafto-[1,2- $\epsilon$ ][1]-benzopirano-8,9-diol; 1,7,8,12b-tetra-hidro-2,2,4-trimetil-2H-benzo-[6,7]-ciclo-hepta-[1,2,3-de][1]-benzopirano-5,9,10-triol; 1,7,8,12b-tetra-hidro-

2,2,4-trimetil-2H-benzo-[6,7]-ciclo-hepta-[1,2,3-de][1] benzo- pirano-5,10,11-triol 26 (MAILLARD *et al.*, 1991).

A espécie *Bauhinia splendens* Kunth Var. é amplamente empregada na medicina popular para combater diversas doenças, principalmente aquelas associadas a processos infecciosos e dolorosos (PIO CORREIA, 1984). A mesma foi investigada quanto à possível atividade antibacteriana através do método da difusão em ágar e pela determinação da concentração inibitória mínima (CIM), mostrando-se ativa contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Os extratos de diclorometano e acetato de etila das folhas desta planta foram ativos no modelo de difusão em ágar contra *Salmonella sp.* em todas as concentrações utilizadas (1,25-3,75 mg). O extrato de diclorometano também mostrou-se ativo contra *Streptococcus sp.* e *Staphylococcus aureus*, com uma zona de inibição de 26 e 18 mm, respectivamente, na concentração de 2,5 mg/disco. Por outro lado, o extrato aquoso desta planta não apresentou atividade antibacteriana. Quanto à determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM), o extrato diclorometanólico apresentou valores de 0,7 mg/ml contra *Staphylococcus typhimurium* e 0,4 mg/ml contra *Staphylococcus aureus*, e o extrato de acetato de etila apresentou CIM mínima, mostrando-se ativa contra bactérias Gram - de 0,8 mg/ml e 0,4 mg/ml, respectivamente. Estes efeitos parecem estar relacionados com os compostos fenólicos (rutina,

quercetina e galato de etila) isolados desta planta. (SAVI, *et al.*, 1997; CECHINEL FILHO, 2000).

Os extratos hidroalcoólicos e os de acetato de etila (10 mg/kg) das folhas, caules, cascas e raízes de *Bauhinia splendens* Kunth Var. apresentaram considerável efeito analgésico quando analisados no modelo de dor causado pelo ácido acético 0,6% em camundongos, sendo mais eficazes do que a aspirina e o paracetamol, dois fármacos amplamente utilizados na clínica (CECHINEL FILHO *et al.*, 1995).

O extrato hidroalcoólico de *Bauhinia splendens* Kunth Var., na dose de 3-60 mg/kg (i.p) ou 50-400 mg/kg (oral) causou inibição dose-dependente na constrição abdominal causada pelo ácido acético, com DI 50 de 3 mg/kg (via i.p) e 177,6 mg/kg (via oral) e inibição máxima de  $95 \pm 2$  e  $61 \pm 6\%$ , respectivamente. No teste da formalina, na dose de 1-60 mg/kg (i.p.) e 50-400 mg/kg (oral), a espécie *B. splendens* mostrou-se mais ativa na segunda fase da dor induzida pela formalina. As porcentagens de inibição máxima para a primeira e segunda fase da dor foram  $68 \pm 6$  e  $99 \pm 1\%$ , respectivamente, pela via i.p. e  $37 \pm 6$  e  $69 \pm 9\%$ , pela via oral. Porém, estas mesmas doses não foram significativamente eficazes na resposta edematogênica causada pela formalina. O mecanismo de ação do extrato de *Bauhinia splendens* ainda continua desconhecido, porém parece estar

relacionado com a modulação de receptores opióides (WILLAIN FILHO *et al.*, 1997).

Estudos recentes indicaram que a *Bauhinia tarapotensis* Benth. apresenta várias substâncias com perfil antioxidante (PIZZA *et al.*, 2001).

Ensaio clínico da tintura de *Bauhinia unguolata* L. comprovaram sua atividade hipoglicemiante. O acompanhamento clínico de 15 pacientes portadores de *Diabetes mellitus* submetidos ao tratamento com tintura a 20% das folhas, após concordância do comitê de ética local. Antes do tratamento com a tintura, todos os pacientes fizeram uso de clorpropamida numa dose de 125 mg/dia dependendo do nível de glicemia, foram administradas 15, 30 e 70 gotas/dia a cada paciente, mantendo-se o acompanhamento mensal para realização dos exames clínicos laboratoriais (glicemia). Foi observado que 40% dos pacientes submetidos ao tratamento com a planta, suspenderam a clorpropamida e conseguiram o controle da glicemia apenas com a tintura de mororó e desta forma mantiveram a glicemia normal (MORAIS e ANDRADE, 1996).

O extrato hidroalcoólico das sementes da *Bauhinia variegata* L. (1000 mg/kg) apresentou polifenóis (flavonóides) com efeito

hipoglicemiante em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina (55 mg/kg) (WAZLAWIK *et al.*, 1994).

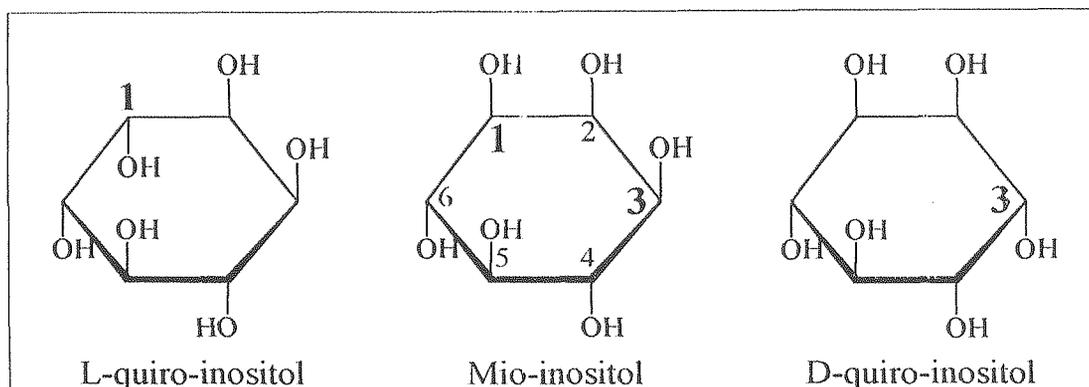
Em um *screening* de plantas usadas tradicionalmente no Nepal para tratar de doenças que podem ser causadas por vírus, os extratos metanólicos de algumas espécies de *Bauhinia* mostraram-se parcialmente eficazes contra os microorganismos *Herpes simplex*, *Sindbis virus* e *Poliovirus* (TAYLOR *et al.*, 1996).

## 1.7 Inositóis

A existência de mediadores químicos intracelulares que sinalizam as respostas à insulina foi proposta em 1974 por LARNER *et al.* Desde então, tem sido feitos progressos na identificação de tais mediadores (CHENG *et al.*, 1985). Mediadores putativos que regulam a atividade da adenilato ciclase e da adenina monofosfato cíclico (AMPc) dependente de proteína quinase (CHENG *et al.*, 1995; MALCHOFF *et al.*, 1987), fosfodiesterase de AMPc (MALCHOFF *et al.*, 1987; SALTIEL *et al.*, 1986), piruvato desidrogenase (SALTIEL, 1987; SUZUKI, 1987) e outros sistemas enzimáticos insulino-controlados (ALVAREZ, 1987) têm sido identificados e purificados a vários graus de homogeneidade, embora as relações estruturais entre os mediadores individuais ainda não tenham sido

elucidadas. Esses mediadores foram isolados do fígado e tecidos musculares (CHENG *et al.* 1985), membranas e fígado (MALCHOFF *et al.*, 1987; SALTIEL, 1987) e uma variedade de outras fontes. (MALCHOFF *et al.*, 1987; SALTIEL, 1986; MATO, 1987)

A família isomérica de nove inositóis inclui mio-, cis-, allo-, epi-, muco-, neo-, escilo- e os isômeros ópticos D e L quiro- inositóis. O mio- inositol é amplamente distribuído na natureza. A ciclase, biossintetizada a parte da glicose (DAUGHADAY *et al.*, 1955), que converte o precursor imediato 6-p frutose para mio- inositol que foi recentemente clonado (DEAN-JOHNSON *et al.*, 1989). L- quiro- inositol é o produto da epimerização da hidroxila 1 do mio- inositol, enquanto D- quiro- inositol é o produto da epimerização da hidroxila 3 do mio- inositol (Figura 5). D- quiro- inositol tem sido freqüentemente encontrado em plantas e insetos. Muitas plantas são ricas em pinitol, o éter 3-O- metílico do d- quiro- inositol extraído pela primeira vez da madeira do *Pinus* (pinheiro), (ANDERSON, 1988). L- quiro- inositol também foi isolado de plantas e de parasitas como quebraquitol (éter 2-O- metil) (SCHMATZ, 1988). L- quiro- inositol também foi identificado em fígado bovino e fosfolipídios no tecido de rato (BRUZIK *et al.*, 1994; KENNINGTON, 1990).



**Figura 5.** Estruturas do mio-, D e L quiró-inositol. Nos esqueletos químicos é possível observar que o mio-inositol é epimerizado na posição 1 originando o isômero L-quiró-inositol e na posição 3 o isômero D-quiró-inositol

Dois fosfoglicanoinositóis distintos (IPG), mediadores putativos de insulina do fígado de ratos, foram purificados e quimicamente identificados. O primeiro ativa a fosfatase da piruvato desidrogenase (PDH), contém D-quiró-inositol e galactosamina e o segundo que inibe a quinase dependente de AMPc (PKA) e a adenilato ciclase, contém mio-inositol e glucosamina (LARNER *et al.*, 1988).

DAUGHADAY e LARNER *et al.*, 1954, demonstraram um aumento na excreção urinária de mio-inositol em diabéticos tipo 2 comparado com controles, utilizando um bioensaio de crescimento de levedura concluindo que o aumento na excreção era devido a uma competição entre glicose e mio-inositol no transporte tubular renal. Estes

autores mediram a excreção urinária nos grupos controle e diabéticos tipo 2, usando um método moderno de análise (GC/MS). Observaram, assim um aumento na excreção de mio-inositol em diabéticos tipo 2 comparado com os controles e também um decréscimo na excreção de quiro-inositol (KENNINGTON *et al.*, 1990). Este fenômeno foi observado em uma população local na Virgínia (EUA), bem como em uma população de índios Pima. Um padrão semelhante também foi observado no macaco *Rhesus*, onde se verificou um aumento na excreção de mio-inositol e uma diminuição na excreção de quiro-inositol progressiva em pacientes não-diabéticos e diabéticos tipo 2 (KENNINGTON *et al.*, 1990). Este padrão de aumento na excreção de mio-inositol e diminuição na excreção de quiro-inositol na urina também foi relatado em ratos *Goto – Kakizaki* (GK), um modelo de diabetes tipo 2 não-obeso, desenvolvido no Japão através da seleção de ratos com resistência à insulina (SUZUKI *et al.*, 1991).

O decréscimo da excreção de quiro-inositol na urina foi relacionado mais estritamente à resistência à insulina em diabetes tipo 2 em macacos *Rhesus* (ORTMEYER *et al.*, 1993).

Como visto, decréscimo na taxa de excreção de quiro-inositol na urina está linearmente relacionado à sensibilidade de insulina diminuída (aumento da resistência à insulina). Correlações semelhantes foram obtidas

em humanos através da comparação de controles euglicêmicos com não-diabéticos com intolerância à glicose e diabéticos tipo 2 (SUZUKI *et al.*, 1994).

Pelo visto o decréscimo de D-quirositol na urina, como também o aumento da excreção de mio-inositol podem ser marcadores de resistência insulínica (SUZUKI *et al.*, 1994).

Taxas alteradas de excreção de mio-inositol e decréscimo da excreção de quirositol na urina têm sido proposto como um índice de medida mais sensível de resistência à insulina em humanos (KENNINGTON, 1990; KENNINGTON *et al.*, 1990; ASPLIN *et al.*, 1993; LARNER e CRAIG, 1996). Estes e outros estudos recentes com inositóis em urina e tecidos (músculo) (WAHL *et al.*, 1998; ASPLIN *et al.*, 1993) indicam uma deficiência generalizada de quirositol associada com a resistência tecidual à ação da insulina.

Os dois mediadores IPG purificados de fígado de rato, um contendo D-quirositol e chamado IPG-P (inositol fosfoglicano estimulador de fosfatase) e o outro contendo mio-inositol IPG-A (fosfoglicano inibidor de PKA) foram injetados em ratos com diabetes induzida por doses pequenas de estreptozotocina (STZ) em modelo de

diabetes de tipo 2. Estes compostos reduziram a hiperglicemia de modo dose-dependente (HUANG *et al.*, 1993). Uma única injeção intravenosa (iv) em *bolus* em doses nanomolar reduziu a hiperglicemia em aproximadamente 50%. Subseqüentemente, usando um protocolo de infusão no mesmo modelo animal, uma dose equivalente nanomolar de insulina foi comparada com uma dose semelhante de IPG-P (FONTELES *et al.*, 1996). Uma vez que o IPG foi identificado como insulino mimético, reduzindo *in vivo* a hiperglicemia com o uso de doses comparáveis à insulina, esta evidência está de acordo com seu papel potencial de mediador da insulina sendo, talvez, um pouco mais fisiológico em sua ação que o IPG-A (LARNER, 2002).

ORTMEYER e colaboradores, em 1993, realizaram estudos em ratos com diabetes induzida por baixas-doses de estreptozotocina e demonstraram que o d-qui-ro-inositol nas doses de 1-10 mg/kg, induziu uma modesta diminuição da hiperglicemia de maneira dose dependente com resposta máxima de 50%. Quando administrou-se d-qui-ro-inositol endovenosamente (100 mg/kg) em macacos *Rhesus* diabéticos e insulino resistentes, houve um declínio nas taxas de glicose e insulina no plasma.

YOSHINO e colaboradores em 1999, usando animais pré-tratados com troglitazona ou D-qui-ro-inositol por 7 dias, demonstraram que D-

quiro-inositol não teve nenhum efeito na glicose hepática produzida, mas preveniu a resistência insulínica periférica, em contraste o pré-tratamento com troglitazona melhorou a glicose hepática produzida mas não teve efeito na resistência insulínica periférica. Isto indica novamente a efetividade do D-quiro-inositol para corrigir a resistência insulínica.

Há cerca de 10 anos PAK e colaboradores, demonstraram as características da epimerase em tecidos e como esta enzima se relaciona com a transformação de mio-inositol para quiro-inositol (PAK, *et al*, 1993). O decréscimo de mio-inositol para quiro-inositol através da atividade de epimerase observada em extratos de tecido do rato GK pode ser considerado uma explicação sobre o decréscimo de níveis de quiro-inositol na urina e tecidos relacionados à resistência insulínica subjacente (LARNER, 2001).

---

**OBJETIVOS**



## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivos gerais

Considerando a carência de estudos científicos e a ampla utilização de várias espécies de *Bauhinia* na medicina popular para o tratamento do diabetes e da hipercolesterolemia, selecionamos para nossos estudos a *Bauhinia unguolata*, espécie abundante na região Nordeste, também, empregada comumente com esta finalidade.

Este estudo tem por objetivo geral realizar um estudo com a planta *Bauhinia unguolata* L., enfocando os seguintes aspectos: traçar um perfil toxicológico agudo e crônico com avaliação geral e bioquímica, realizar uma triagem farmacológica no sentido de validar o uso desta planta como antidiabética e averiguar seu potencial no controle de seqüelas e fatores de risco associados ao diabetes, como disfunção endotelial e tendência a hipertensão. Incluindo ainda no objetivo geral a comparação deste efeito com os dos princípios ativos importantes (os inositóis) e verificar a possível correlação das taxas de excreção destes açúcares na urina de ratos diabéticos.

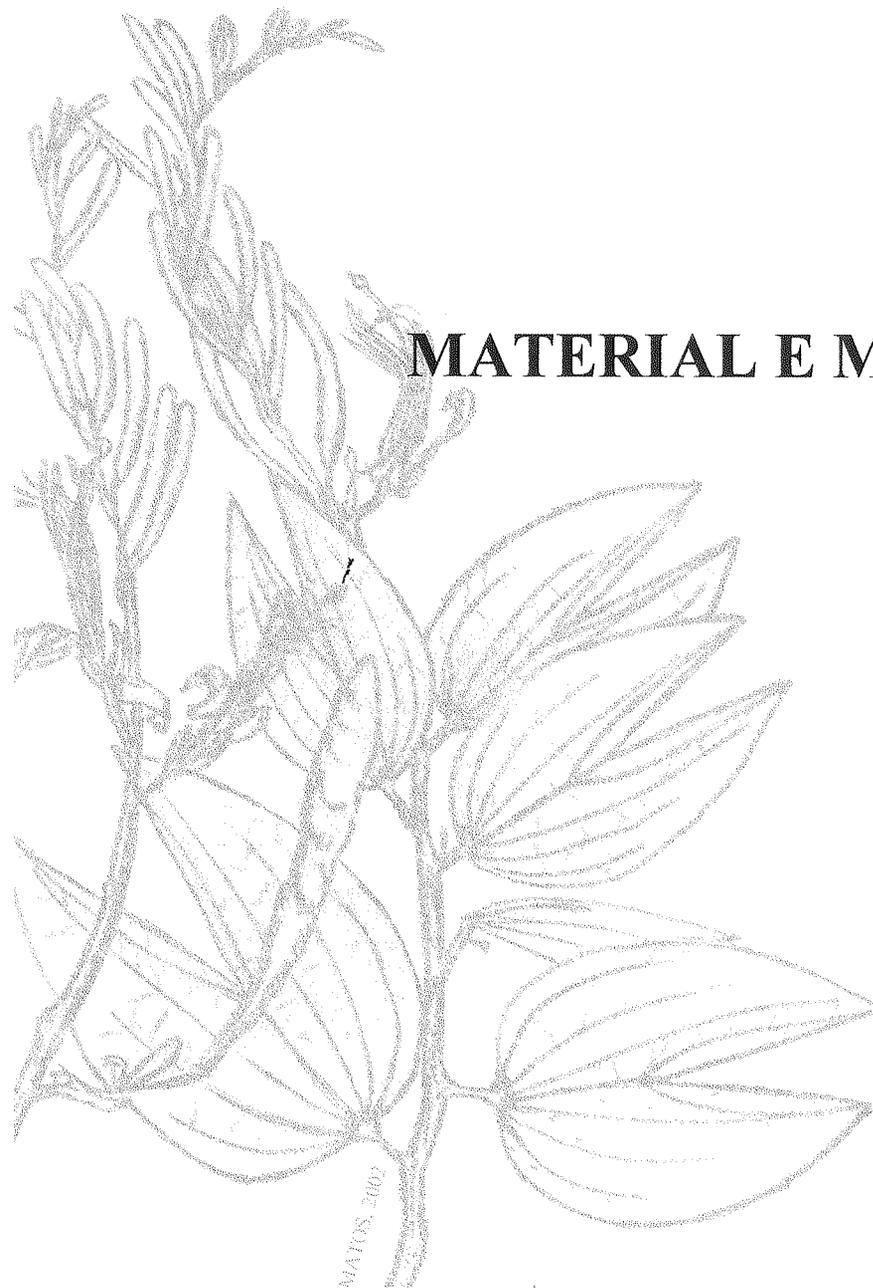
## 2.2. Objetivos específicos

- Verificar através da espectroscopia de massa a presença de mediadores da ação da insulina no extrato aquoso da planta por espectrometria de massa.
- Determinar a  $DL_{50}$  (determinação da dose letal média) do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) em camundongos por via oral e intraperitoneal.
- Avaliar os efeitos tóxicos do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) através do estudo da toxicidade subcrônica em ratos com verificação das condições física e dos parâmetros bioquímicos, após administração aguda ou crônica.
- Avaliar a ação hipoglicemiante do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) em animais euglicêmicos e diabéticos por estreptozotocina (STZ) e comparar estes efeitos com os mediadores putativos da insulina DCI (D-quiró inositol) e pinitol.

- Caracterizar os efeitos hipotensores do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) em ratos normotensos, *in vivo* e avaliar potencial ação vasodilatadora *in vitro* no leito vascular mesentérico (LVM) de ratos normotensos.
- Avaliar o potencial vasoprotetor do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na disfunção endotelial diabética em vasos de condutância e resistência, utilizando-se anéis de aorta e o leito vascular mesentérico de ratos diabéticos perfundido à pressão constante.
- Estudar a ação hipolipemiante e hipotrigliceriante do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) em camundongos tratados com tiloxapol, um agente indutor de dislipidemia.
- Investigar se a administração oral do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) pode restaurar a taxa de excreção urinária de DCI (D-quirol inositol) em animais com diabetes induzida por aloxana.

---

**MATERIAL E MÉTODOS**



### 3. MATERIAL E MÉTODOS

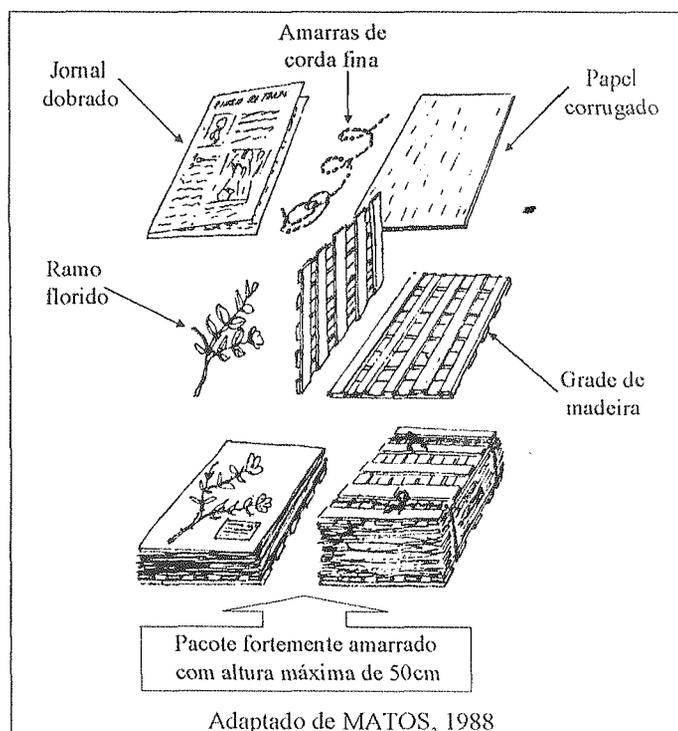
#### 3.1 Herborização e identificação do espécime botânico

Para iniciar os estudos de qualquer natureza com uma planta, é necessário, que inicialmente, o material seja identificado por um botânico. Isto é feito através da herborização, procedimento que resultará em uma excicata que deverá ser integrada a um herbário e examinada pelo taxonomista. Estes cuidados são importantes uma vez que a excicata, unidade básica de coleção de um herbário, se constitui no material testemunho referencial para futuros estudos, dando ao pesquisador a certeza do gênero e da espécie da planta eleita para estudo. A excicata, também pode permitir a documentação permanente da composição florística de áreas que se modificam ao longo do tempo, seja pela ação antrópica ou por efeito de eventos e perturbações naturais como furacões, aterramentos, vulcanismos e terremotos; que alteram irremediavelmente a cobertura vegetal, dentre outras referências. (BONONI *et al.* 1984; KRAUS, 1997)

Em conformidade com as referências citadas acima e objetivando a correta identificação da planta selecionada para o estudo químico e farmacológico deste trabalho, é que realizamos a herborização

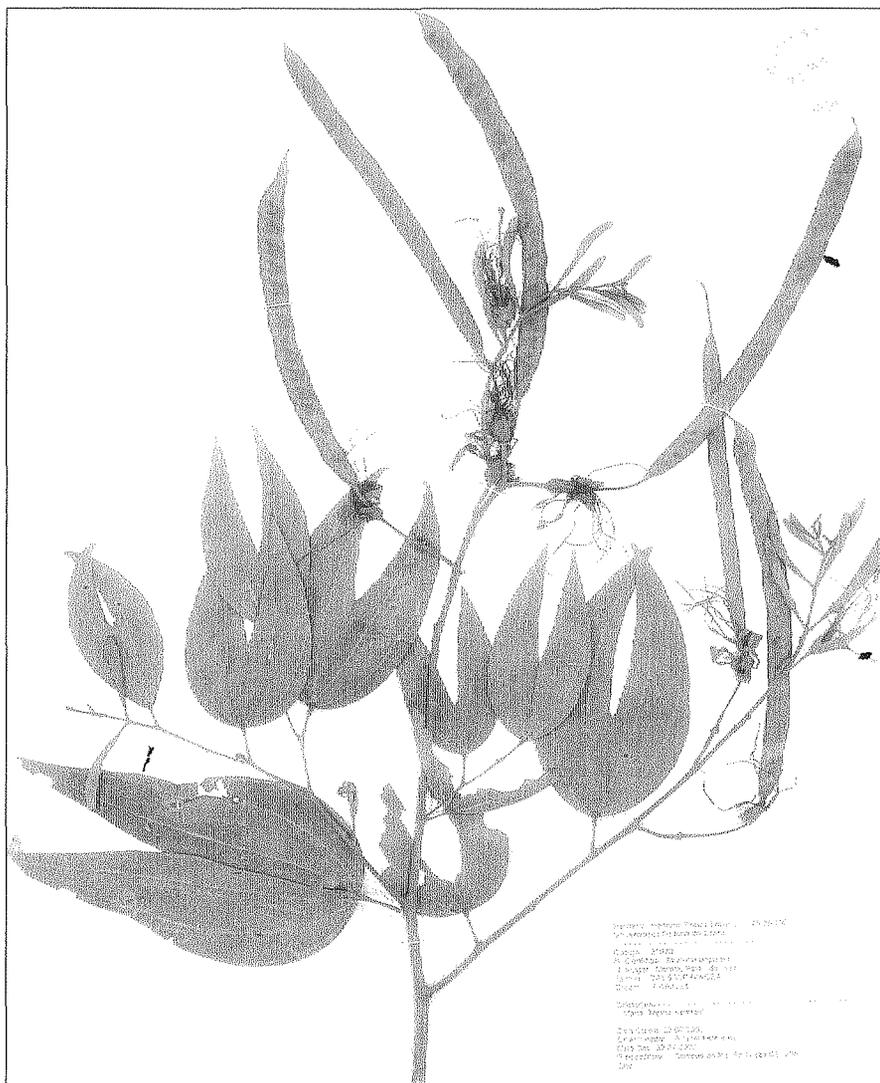
da *Bauhinia unguolata* cortando vários ramos floridos com frutos de aproximadamente 30 cm. O material botânico foi prensado entre duas grades de madeira com cordas fortemente amarradas; foi colocado um ramo da planta dentro de uma folha de jornal e em seguida por cima um pedaço de papelão até completar três conjuntos, sendo que no último ramo foi colocado uma ficha de identificação com os nomes populares (Pata-de-vaca, Mororó), o porte da planta (árvore), o local de coleta (Horto de Plantas Medicinais da Universidade Federal do Ceará – prof. diretor Dr. Francisco José de Abreu Matos), a data da coleta (30/07/2002) e o nome do coletor (Marta Regina Kerntopf). O material foi colocado

para secar em câmara fechada com luz incandescente por 4 dias. Na Figura 6 é possível observar a seqüência de operações de montagem da prensa para a obtenção da exsicata de *Bauhinia unguolata* L.



**Figura 6.** Seqüência de operações de montagem da prensa para preparação da exsicata de *Bauhinia unguolata* L.

A herborização de *Bauhinia unguolata* L. resultou na excicata número 31.930 que foi depositada no Herbário Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, tendo sido identificada pelo professor Dr. Afrânio Gomes Fernandes especialista na família, Figura 7.



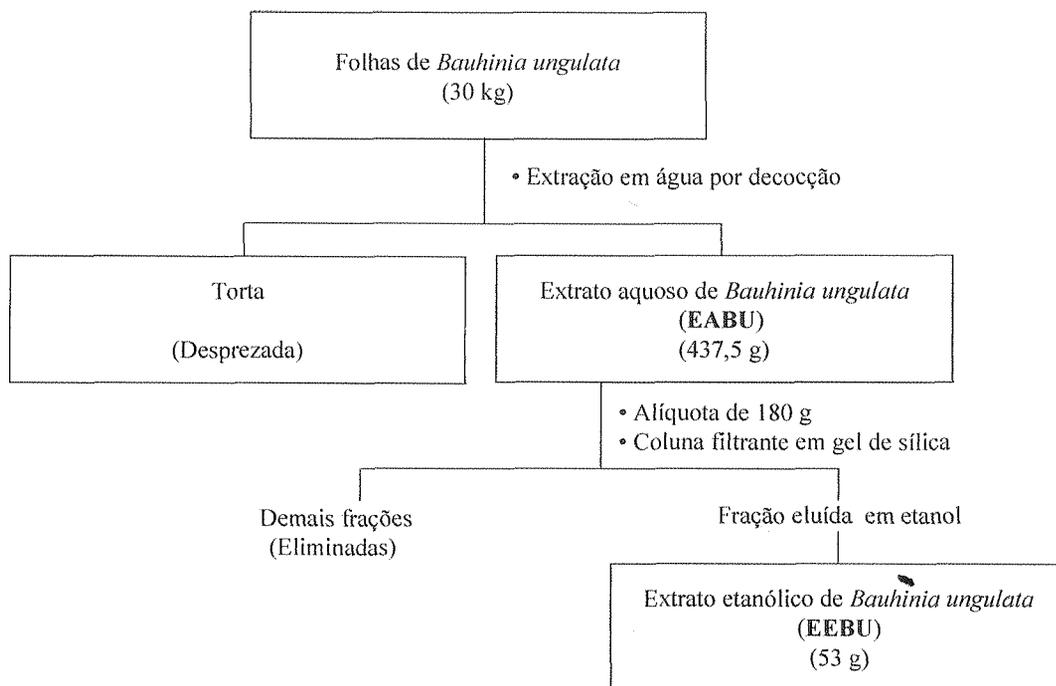
**Figura 7.** Fotocópia da excicata de *Bauhinia unguolata* L. que se encontra no Herbário Prisco Bezerra do Departamento de Biologia da UFC, registrada sob o número de código 31.930

## 3.2 Estudo químico

### 3.2.1 Obtenção dos extratos aquoso e etanólico das folhas de *Bauhinia unguolata*

As folhas da planta (30 Kg) foram mergulhadas em água destilada na proporção (1:3) respectivamente e submetidas a decocção até reduzir a água à metade. Em seguida o material foi filtrado e liofilizado em liofilizador (BOC Edwards – U.S.A.) até a formação de um resíduo seco de coloração marrom escuro (437,5 g) denominado EABU (Extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*). A torta foi desprezada (Figura 8).

Uma alíquota do EABU (180 g) foi cromatografada em coluna filtrante de gel de sílica 60 (Merck S.A., S Paulo, Brasil), utilizando-se a seqüência dos seguintes eluentes: éter de petróleo, hexano, clorofórmio, acetato de etila e etanol. A fração etanólica foi eleita para estudo por ser a mais polar e apresentar maior rendimento, sendo concentrada a resíduo seco por destilação do solvente em evaporador rotativo à temperatura inferior a 80°C, denominado de EEBU (Extrato etanólico de *Bauhinia unguolata*), fornecendo 53 g de um material viscoso castanho escuro; as demais frações foram eliminadas, Figura 8.



**Figura 8.** Fluxograma de obtenção do Extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e do Extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU)

### 3.2.2 Identificação e quantificação de inositóis no extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU)

As análises para identificação química dos principais componentes do extrato aquoso das folhas de *B. unguolata* (EABU), procedimento ocorreu efetuando-se duas hidrólises visando à prospecção da presença de inositóis.

A primeira hidrólise foi obtida, utilizando-se uma alíquota de 200 mg de EABU em ácido clorídrico (HCl) 6N a 100°C por 48 horas. O

material hidrolisado foi separado, lavado em água destilada e liofilizado, sendo denominado **EABU-hidrolisado-HCl**. O material não hidrolisado em HCl, foi novamente submetido a uma segunda hidrólise, utilizando-se ácido trifluoroacético (TFA) 4N a 100°C, por 4 horas. O material lavado em água destilada e liofilizado foi denominado **EABU-hidrolisado-TFA**.

O EABU-hidrolisado-HCl foi redissolvido em 5 mL de água destilada. Uma alíquota de 200 µL foi retirada e dissolvida em uma mistura contendo 100 µL de N-O-bis-(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA), 1% trimetilciorossilano (TMCS) e acetonitrila a 55°C, por 20 horas. O material metilado foi injetado numa coluna capilar de fase estacionária de um cromatógrafo de gás (DB-5 GC) acoplado a um espectrômetro de massa (*AutoSpec* da *Fisions Instruments*, modelo M, impacto eletrônico de 70 e.V.). O mesmo procedimento foi realizado para o EABU-hidrolisado-TFA, obtendo-se dois cromatogramas para análise específica dos picos de inositóis. O espectrômetro de massa possuía um *software* apropriado de análise que permitia a integração, produção de uma curva padrão e determinação posterior da concentração de inositóis na amostra por comparação com a injeção do padrão.

Um banco de dados de espectros de compostos químicos conhecidos foi utilizado para comparação dos picos obtidos nos dois

cromatogramas originados dos hidrolisados do EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) com os padrões.

### 3.2.3 Quantificação de íon potássio e sódio no extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU)

As concentrações dos íons potássio e sódio do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) foram determinadas em uma alíquota diluída (1:4) em água destilada, por fotometria de chama (Micronal, Brasil) por aspiração direta das soluções aquosas e medição da intensidade de emissão dos fótons.

## 3.3 Testes biológicos

### 3.3.1 Animais experimentais

Os ratos (*Rattus norvegicus*) da cepa Wistar, assim como os camundongos albinos (*Mus musculus*) da cepa Swiss utilizados neste trabalho foram obtidos no Biotério da Unidade de Pesquisas Clínicas da Universidade Federal do Ceará (UFC). Os animais foram acondicionados em caixas de polipropileno e/ou gaiolas metabólicas (dependendo do

experimento), à temperatura ambiente de 22-24°C, com ciclos claro/escuro de 12 horas, recebendo ração padrão e água *ad libitum*. Todos os procedimentos utilizados seguiram as normas da ética em pesquisa.

### 3.3.2 Drogas e reagentes

Todas as drogas e reagentes utilizados neste trabalho eram de padrão analítico, obtidas das companhias Sigma (St. Louis, MO, E.U.A.), Merck (Darmstadt, Germany), Reagen (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e Synth (Diadema, São Paulo, Brasil).

As drogas diabetogênicas utilizadas: estreptozotocina e aloxana, foram de fabricação da Sigma/Aldrich Chemical Co. (Saint Louis, MO, E.U.A.). Sendo, antes do uso, diluídas em solução fisiológica (NaCl 0,9%) na hora da indução e protegidas da luz.

As substâncias controles hipoglicemiantes utilizadas por via parenteral, (insulina) ou oral, (glibenclamida). Foram foram obtidas da Nordisk (Wintlal –Londres, UK). Os inositóis, *D*-quiro-inositol e pinitol

foram gentilmente cedidos pelo prof. Joseph Larner (Allomed, Richmond, VA, E.U.A.) e diluídos quando necessário antes da utilização.

O indutor de dislipidemia, tiloxapol® (Triton WR 1339, Sigma/Aldrich) e a droga hipolipemiante gemfibrozil (Lopid® -Ache Laboratórios Farmacêuticos S. A., São Paulo, S.P) foram mantidas como solução estoque de 400 mg/mL e 100 mg/mL, respectivamente e estocadas em freezer a -20 °C e descongeladas no momento do uso.

As drogas utilizadas nos experimentos de validação dos efeitos do EABU na pressão arterial, i.e., atropina (ATR), hexametônio (HEX), fentolamina (FEN), quentaserina (KEN), indometacina (IND), prometazina (PROM), e propranolol (PRO), foram obtidas da Sigma/Aldrich Chemical e diluídas apenas nos dias dos experimentos. O mesmo procedimento foi utilizado em relação aos seus controles experimentais, i.e., acetilcolina, fenilefrina, serotonina, histamina e isoproterenol, também foram obtidos da Sigma/Aldrich.

Nos experimentos com anéis de aorta ou leito arteriolar mesentérico foram utilizados soluções estoque (-20°C) de  $10^{-4}$  M de fenilefrina, acetilcolina ( $10^{-4}$ M) em ácido acético e nitroprussiato de

sódio ( $10^{-4}\text{M}$ ; Merck, New Jersey, NJ, E.U.A.) que eram descongeladas apenas no dia do uso e refeitas semanalmente.

### 3.3.3 Solução nutritiva

A solução utilizada nos experimentos de aorta e leito mesentérico foi a solução de Krebs-Henseleit (KHS), cuja composição em gramas/L era: 6,7g de NaCl; 0,37g de KCl; 0,17g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ; 0,144g de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 2,1g de  $\text{NaHCO}_3$ ; 0,31g de  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  e 0,65g de glicose.

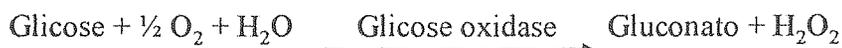
Todas as soluções tiveram pH ajustado para 7,4 e foram oxigenadas com mistura carbogênica (95%  $\text{O}_2$  e 5%  $\text{CO}_2$ ). Todos os sais utilizados eram de padrão analítico obtidos das empresas Reagen e Grupo Química (Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e estocados em temperatura ambiente.

### 3.3.4 Metodologia e princípios bioquímicos para avaliação dos perfis glicêmicos e lipídicos

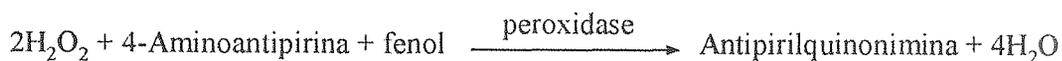
#### 3.3.4.1 Glicose

A determinação do nível de glicose plasmática foi realizada pelo método enzimático (Glicose GOD-ANA LABTESTE<sup>®</sup>, Labtest,

Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), que tem como princípio a catalização oxidativa da glicose pela glicose oxidase (oxigênio-1-oxidorreductase), respectiva da reação.



O peróxido de hidrogênio formado reage com 4-aminoantipirina e fenol, sob ação catalisadora da peroxidase (POD-Doador: hidrogênio-peróxido oxidorreductase), através de uma reação oxidativa de acoplamento, formando uma antipirilquinonimina vermelha cuja intensidade de cor é proporcional à concentração da glicose na amostra representada na equação abaixo.

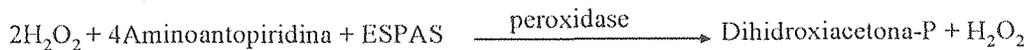
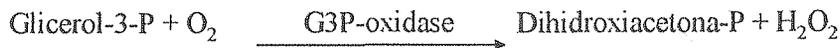
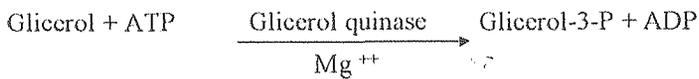
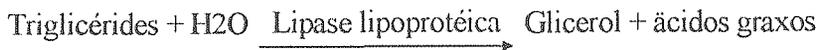


Dentre os reagentes envolvidos: fosfatos 70 mmol/L, fenol 5 mmol/L, glicose oxidase > 10 U/mL, peroxidase > 1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,4 mmol/L, pH 7,5 e o padrão de glicose (Glicose 100 mg/dL). Após obtenção das amostras, as mesmas foram imersas em banho Maria a 37 °C por um período de 15 minutos sendo depois retiradas e resfriadas em água corrente por 5 minutos. As quantificações séricas da glicose foram obtidas através da densidade ótica aferida pelo

espectrofotômetro e uma tabela de correlação entre a densidade ótica e a concentração de glicose (TIESTZ, 1970). Somente animais com glicemia igual ou superior a 200 mg/dL foram incluídos no estudo.

#### *3.3.4.2 Triglicérides*

O método utilizado para a determinação dos triglicerídeos foi o enzimático de Trinder (Triglicérides GPO-ANA LABTESTE<sup>®</sup>, Labtest, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), que tem como princípio a reação de hidrólise dos triglicerídeos pela lipase lipoprotéica, onde o glicerol liberado é fosforilado pelo glicerol quinase, formando glicerol fosfato, que é oxidado a dihidroxiacetona e água oxigenada por ação da glicerol-3-fosfato oxidase. Através da reação oxidativa catalisada pela peroxidase, a água oxigenada reage com a 4-aminoantipirina e ESPAS (N-etil-N (3-sulfopropil)-m-anisidina/surfatante), produzindo a antipirilquinonimina que é um complexo colorido cuja absorvância é quantificada em 540 nm por espectrofotometria, com valores diretamente proporcionais à concentração de triglicerídeos (TONKS, 1970). As equações destas reações são descritas a seguir.

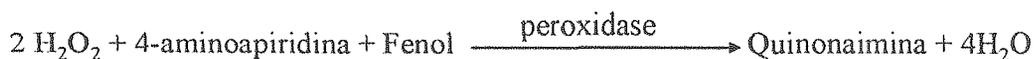
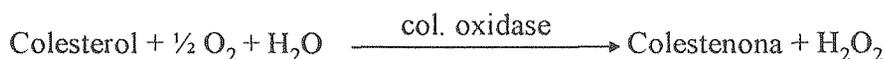
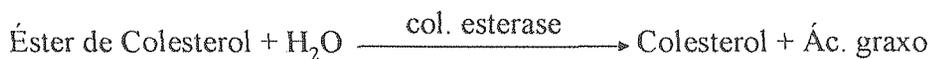


Os reagentes utilizados para a análise foram: Pipes 45 mmol/L, 4-clorofenol 6 mmol/L, cloreto de magnésio 5 mmol/L, lipase > 100 U/mL, glicerol quinase > 1,5 U/mL, glicerol - 3 - fosfato oxidase > 4 U/mL, peroxidase > 0,8 U/mL, 4-aminoantipirina 0,75 mmol/L, ATP 0,9 mmol/L com pH 7,5. O padrão foi o glicerol quantitativamente equivalente a 200 mg/dL de trioleína (TONKS, 1970).

#### 3.3.4.3 Colesterol Total

Para a determinação do colesterol total foi utilizado o método enzimático de Trinder (Triglicérides GPO-ANA LABTESTE®, Labtest, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), onde os ésteres de colesterol são hidrolisados pelo colesterol-esterase formando o colesterol livre que, após oxidação pela colesterol oxidase, forma o peróxido de hidrogênio. Este, reagindo com o fenol e 4-aminoantipirina, através de copulação oxidativa

catalisada pela peroxidases, produz uma quinonimina de cor vermelha, cuja absorvância, medida em 500nm, é diretamente proporcional à concentração de colesterol da amostra (TONKS, 1970). As equações destas reações são descritas abaixo.



Os reagentes de cor envolvidos nesta análise foram; Pipes 35 mmol/L, colato sódico 0,5 mmol/L, fenol 28 mmol/L, colesterol esterase > 0,2 U/mL, colesterol oxidase > 0,1 U/mL, peroxidase > 0,8 U/mL, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, com pH 7,0. O padrão utilizado foi 200 mg/dL de colesterol (TONKS, 1970).

/

#### 3.3.4.4 Colesterol HDL

O método utilizado para a determinação do colesterol HDL foi o enzimático de Trinder (Triglicérides GPO-ANA LABTESTE<sup>®</sup>, Labtest, Lagoa Santa, Minas Gerais, Brasil), onde os quilomícrons e as lipoproteínas de baixíssima densidade (VLDL) e de baixa densidade

(LDL) presentes na amostra, precipitam em presença de fosfotungstato e íons magnésio. O sobrenadante da centrifugação contém as lipoproteínas de elevada densidade (HDL), cujo colesterol quantifica-se espectrofotometricamente; as reações são semelhantes as descritas para o colesterol total (TONKS, 1970).

Os reagentes envolvidos nesta análise foram; fosfatos 35 mmol/L, colesterol esterase > 0,2 U/mL, colesterol oxidase > 0,1 U/mL, peroxidase > 1 U/mL, 4-aminoantipirina 0,5 mmol/L, colato sódico 0,5 mmol/L, diclorofenol-sulfonado 4mmol/l, Fosfotungstato 0,4 mmol/L, acetato de magnésio 20 mmol/L, com pH 7,0 (TONKS, 1970).

#### 3.3.4.5 Colesterol LDL

O teor de colesterol LDL foi calculado através da fórmula da Friedwald, descrita abaixo; para níveis de triglicérides menores ou iguais a 400 mg/dl (FRIEDWALD *et al.*, 1972).

$$\text{LDL-colesterol} = \text{CT} - (\text{HDL-colesterol} + \text{TG}/5)$$

Onde:

LDL-colesterol = *low density lipoprotein*, lipoproteína de baixa densidade

CT = colesterol total sérico

HDL-colesterol = *high density lipoprotein*, lipoproteína de alta densidade

TG/5 = triglicérides/5 = VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade

#### 3.3.4.6 Índice Aterogênico (IA)

O índice aterogênico (IA) foi expresso como  $LDL + VLDL/HDL$ , onde VLDL corresponde a lipoproteína de densidade muito baixa (KOBAYASHI *et al.*, 1999).

#### 3.3.5 Efeitos hipocráticos e determinação da dose letal média ( $DL_{50}$ )

Camundongos albinos (*Mus musculus*) da cepa Swiss (n=10/grupo), pesando 20-30 g, foram tratados pela via intraperitoneal e oral através de cânula de *gavagem*, com salina (0,01 mL/Kg) ou extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30; 100; 300; 500; 750; 1000, 2000 e 3000mg/Kg). Seguindo o método de MALONE e ROBICHAUD, (1962) os animais foram observados por uma hora para verificação de efeitos hipocráticos sendo anotados em tabelas de Malone modificadas. Após 24 horas o número de mortos foi registrado.

### 3.3.6 Avaliação da toxicidade sub-aguda

Neste estudo foram utilizados ratos Wistar, machos e fêmeas, pesando entre 250 a 300 g. Cada grupo foi constituído de 20 animais (10 machos e 10 fêmeas) separados em gaiolas de acordo com o sexo. Os grupos foram tratados diariamente por via oral com a dose de 400 mg/Kg do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), durante 30 dias. O grupo controle recebeu um volume correspondente de salina 0,9 % (0,1 mL/100 g; v.o.).

A seguir os animais foram anestesiados com éter etílico e através de um tubo micro hematócrito foi feita a punção do sangue no plexo venoso orbital. Este procedimento fez-se no início e no fim do tratamento para análise de parâmetros bioquímicos (concentração de glicose, uréia, creatinina, transaminase-glutâmica oxalacética (TGO), transaminase glutâmica pirúvica (TGP), colesterol total), hematológicos [hemácias, plaquetas, leucócitos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos)] e dos índices hematimétricos: volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MHC) e concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC). Os animais eram pesados semanalmente. Diariamente eram observados para

verificação de alterações comportamentais ou clínicas; os dados obtidos eram anotados em tabelas de Malone (MALONE, 1962).

Ao final do período experimental os animais foram sacrificados por deslocamento cervical seguido de sangria por secção dos vasos cervicais. Fragmentos de baço, cérebro, coração, fígado, pulmões e rins foram coletados de todos os grupos (tratados com EABU e tratados com salina) e fixados em formaldeído a 10%. Os fragmentos foram desidratados, diafanizados e cortados em micrótomo numa espessura de 5 µm. O material foi corado com Hematoxilina-Eosina e as lâminas avaliadas por microscopia ótica (CORMACK, 1991).

### *3.3.7 Determinação da atividade hipoglicemiante*

O diabetes foi induzido, 48 horas antes do experimento, por injeção intraperitoneal de estreptozotocina (65 mg/Kg) em ratos Wistar, machos.

#### *3.3.7.1 Atividade hipoglicemiante aguda*

Esta avaliação foi feita utilizando-se dois conjuntos de experimentos.

No **primeiro conjunto** ratos Wistar (machos, 250-300 g) diabéticos por estreptozotocina, foram anestesiados com pentobarbital sódico (45 mg/Kg); em seguida, realizou-se cirurgia para canulação da veia jugular com cânulas de polietileno (PE20) previamente heparinizadas, para infusão dos extratos e drogas; procedeu-se a infusão através de uma bomba (B. Brown Melsungen, Hamburgo, Alemanha) com salina (50  $\mu$ L/min; n=6); EABU (0.25, 0.5 ou 1 mg/Kg/min; n=6 cada grupo); EEBU (0.25, 0.5 ou 1 mg/Kg/min; n=6 cada grupo); pinitol (400  $\mu$ g/Kg/min; n=6); D-quirol inositol (400  $\mu$ g/Kg/min; n=6); ou insulina (20 nM/Kg/min; n=6) (Novolin®, 1 UI/Kg;), por um período de duas horas. As amostras de sangue foram coletadas na veia caudal, a cada 20 minutos depois da infusão ao longo de 120 minutos. O controle (tempo zero) foi coletado antes da infusão. O sangue foi centrifugado a 3000 rpm por cinco minutos e a concentração de glicose determinada conforme técnica já descrita.

No **segundo conjunto** procedeu-se a avaliação dos efeitos agudos do EABU, quando administrado por via oral, na glicemia de ratos machos, pesando entre 250-300g, cuja diabetes foi induzida por estreptozotocina. Os animais foram tratados por via oral (*gavagem*) com salina (1 mL/Kg; n=6), EABU (100 mg/Kg, 200mg/Kg 400 mg/Kg v.o.;

n=8), EEBU (100 mg/Kg, 200mg/Kg 400 mg/Kg v.o.; n=6), pinitol (20 mg/Kg; n=6, v.o); *D-qui-ro*-inositol (20 mg/Kg; n=6, v.o); ou glibenclamida (2 mg/Kg; v.o.; n=6),

Após 30 minutos da administração das drogas os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg) e amostras de sangue foram coletadas na veia caudal a cada 20 minutos, por um período de 120 minutos. As dosagens da glicemia foram realizadas em um período inferior a 1 hora após o término dos experimentos, seguindo o método anteriormente descrito.

### *3.3.7.2 Teste de tolerância oral a glicose - efeito do EABU e do EEBU*

Nestes testes foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150-200<sup>g</sup>, divididos em 5 grupos com n=8, mostrado na Tabela 3.

n=8), EEBU (100 mg/Kg, 200mg/Kg 400 mg/Kg v.o.; n=6), pinitol (20 mg/Kg; n=6, v.o); D-*quiro*-inositol (20 mg/Kg; n=6, v.o); ou glibenclamida (2 mg/Kg; v.o.; n=6),

Após 30 minutos da administração das drogas os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg) e amostras de sangue foram coletadas na veia caudal a cada 20 minutos, por um período de 120 minutos. As dosagens da glicemia foram realizadas em um período inferior a 1 hora após o término dos experimentos, seguindo o método anteriormente descrito.

### *3.3.7.2 Teste de tolerância oral a glicose - efeito do EABU e do EEBU*

Nestes testes foram utilizados ratos Wistar machos pesando entre 150-200 g, divididos em 5 grupos com n=8, mostrado na Tabela 3.

**Tabela 3.** Grupos experimentais selecionados para o teste de tolerância oral a glicose, verificando o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) após uma sobrecarga de glicose

Grupo	Tratamento
Grupo 1:	(Controle sem sobrecarga de glicose) (salina 1 mL/Kg + salina 1 mL/Kg)*
Grupo 2:	(controle com sobrecarga de glicose) (sobrecarga de glicose a 3g/Kg + salina 1 mL/Kg)*
Grupo 3:	(sobrecarga de glicose a 3g/Kg + EABU 400 mg/Kg)*
Grupo 4:	(sobrecarga de glicose a 3g/Kg + EEBU 400 mg/Kg)*
Grupo 5:	(sobrecarga de glicose a 3g/Kg + glibenclamida 2mg/Kg)*

\* = tratados vo (via oral) com 8 animais por grupo

Os grupos 2, 3, 4 e 5 receberam uma sobrecarga de glicose de 3g/Kg 30 minutos após o tratamento com salina 1 mL/Kg, EABU 400 mg/Kg, EEBU 400 mg/Kg e glibenclamida 2mg/Kg, respectivamente (KUMARI E AUGUSTINI, 1995; WANG *et al.*, 1996). O grupo 1 não sofreu sobrecarga de glicose. Todas as administrações foram realizadas por via oral (*gavagem*).

As amostras de sangue foram coletadas do plexo infra orbital em tubos de coleta de soro (Vacuette, São Paulo, S.P., Brasil), nos tempos 0, 30, 60 e 90 minutos, após administração da glicose, centrifugadas e

enviadas para imediata dosagem da glicemia seguindo o método anteriormente descrito.

### *3.3.8 Avaliação dos efeitos metabólicos (perfil glicêmico e lipídico) e no ganho de peso corporal, após tratamento oral com o extrato aquoso de Bauhinia unguolata (EABU) durante 3 semanas*

Este experimento foi realizado através de ensaio com 9 grupos experimentais (I a IX), pesando entre 200 a 250g, que estão compilados na Tabela 4.

Neste experimento, foi verificado o efeito da administração das drogas citadas na Tabela 4, durante 3 semanas de tratamento, sendo avaliados os valores glicêmicos, perfil lipídico e ganho de peso corporal por avaliação semanal.

Amostras de sangue (3mL) foram coletadas através do plexo infra orbital em tubos de coleta de soro de 4 mL com gel separador (Vacuette, São Paulo, S.P., Brasil), foram realizadas três coletas sucessivas; a primeira para a confirmação da euglicemia e da hiperglicemia induzida por estreptozotocina (STZ), a segunda denominada como o primeiro dia do experimento e uma terceira efetuada

enviadas para imediata dosagem da glicemia seguindo o método anteriormente descrito.

### *3.3.8 Avaliação dos efeitos metabólicos (perfil glicêmico e lipídico) e no ganho de peso corporal, após tratamento oral com o extrato aquoso de Bauhinia unguolata (EABU) durante 3 semanas*

Este experimento foi realizado através de ensaio com 9 grupos experimentais (I a IX), pesando entre 200 a 250g, que estão compilados na Tabela 4.

Neste experimento, foi verificado o efeito da administração das drogas citadas na Tabela 4, durante 3 semanas de tratamento, sendo avaliados os valores glicêmicos, perfil lipídico e ganho de peso corporal por avaliação semanal.

Amostras de sangue (3mL) foram coletadas através do plexo infra orbital em tubos de coleta de soro de 4 mL com gel separador (Vacuette, São Paulo, S.P., Brasil), foram realizadas três coletas sucessivas; a primeira para a confirmação da euglicemia e da hiperglicemia induzida por estreptozotocina (STZ), a segunda denominada como o primeiro dia do experimento e uma terceira efetuada

após 3 semanas de tratamento diário finalizando o protocolo, os grupos selecionados para estudo estão especificados na Tabela 4. Na primeira coleta verificou-se o perfil glicêmico, na segunda e na terceira os perfis glicêmico e lipídico (triglicérides, colesterol total e fracionado). As amostras de sangue foram centrifugadas e enviadas para dosagem. Os métodos de dosagem foram detalhados anteriormente.

**Tabela 4.** Grupos experimentais selecionados para avaliação dos efeitos metabólicos (perfil glicêmico e lipídico) e no ganho de peso corporal, após tratamento oral com EABU, EEBU, pinitol, D-quiro inositol, insulina e salina tratados diariamente por 3 semanas

	Grupo	Dose/ período/ via	n
I-	Euglicêmico + Salina	1mL/Kg/12h/ v.o	11
II-	Euglicêmico + EABU 400	400mg/Kg /12h/ v.o.	7
III-	Euglicêmico + EEBU 400	400mg/Kg /12h/ v.o.	7
IV-	Diabético-STZ + Salina	1mL/Kg/12h/ v.o	8
V-	Diabético-STZ + EABU 400	400mg/Kg /12h/ v.o.	8
VI-	Diabético-STZ + EEBU 400	400mg/Kg /12h/ v.o.	8
VII-	Diabético-STZ + Pinitol	20mg/Kg/12h/ v.o.	7
VIII-	Diabético-STZ + D-quiro-inositol	20mg/Kg/12h/ v.o.	9
IX-	Diabético-STZ + Insulina	1 U/Kg/24h/ s.c.	8

EABU = extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*, EEBU = extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* STZ = estreptozotocina.

### 3.3.9 Efeitos do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na

#### *dislipidemia induzida por tiloxapol*

A hiperlipidemia foi induzida em camundongos machos, pesando entre 20 a 30 g, por uma única injeção intraperitoneal de

tiloxapol (Triton WR 1339– Sigma/Aldrich, Saint Louis, MO, E.U.A) na dose de 400 mg/Kg (HALL *et al.*, 2000). Seguindo a mesma metodologia utilizada por SILVA, (2000) camundongos albinos Swiss foram separados em 6 grupos aleatórios (n=10/cada grupo), organizados conforme observa-se na Tabela 5.

**Tabela 5.** Grupos experimentais selecionados para a verificação dos efeitos do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na dislipidemia induzida por tiloxapol (n=10/cada grupo)

Grupo (n=10/grupo)	Tratamento
Grupo I	salina (1 mL/Kg; i.p.) + salina (1 mL/Kg; v.o.)
Grupo II	tiloxapol (400 mg/Kg; i.p.) + salina (1 mL/Kg; v.o.)
Grupo III	tiloxapol (400 mg/Kg; i.p.) + gemfibrozil 100 mg/Kg; v.o.)
Grupo IV	tiloxapol (400 mg/Kg; i.p.) + EABU (100 mg/Kg; v.o.)
Grupo V	tiloxapol (400 mg/Kg; i.p.) + EABU (200 mg/Kg; v.o.)
Grupo VI	tiloxapol (400 mg/Kg; i.p.) + EABU (400 mg/Kg; v.o.)

Os grupos acima relacionados na Tabela 5 foram tratados de acordo com o esquema apresentado na Figura 9.

-2h	0h	22h	24h	46h	48h
Tiloxapol ou Salina (i.p.)	Drogas teste (EABU) e controles (gemfibrozil, salina) (v.o.)	Drogas teste (EABU) e controles (gemfibrozil, salina) (v.o.)	Coleta de sangue (Infra orbital)	Drogas teste (EABU) e controles (gemfibrozil, salina) (v.o.)	Coleta de sangue (Infra orbital)

**Figura 9.** Protocolo de avaliação do efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na dislipidemia induzida por tiloxapol

Amostras de sangue foram coletadas através do plexo infra-orbital no período de 24 e 48 horas após os tratamentos especificados acima na Figura 9, sob leve anestesia etérea, em tubos para coleta de soro (Vacuette). As amostras (0,5 mL) foram centrifugadas < 3000 rpm onde os triglicérides (TG), colesterol total (COL) e fracionado foram dosados, utilizando-se kits labtest (Labtest, Lagoa Santa, MG, Brasil) de maneira semelhante ao descrito anteriormente.

### 3.3.10 Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na pressão arterial média (PAM)

Para analisar os efeitos do EABU sobre a PAM foram utilizados ratos Wistar machos, adultos, normotensos com peso entre 250 e 300g. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50mg/Kg) por via intraperitoneal e após atingido estado cirúrgico foi

realizada dissecação dos músculos esterno-cleido-mastóideo e hióideo. A seguir foi realizada a dissecação da artéria carótida e canulação da mesma com cânula de polietileno (PE50) a qual foi acoplada a um transdutor de pressão Gould Statham P23 (Gould Co. Inc., Oxnard, CA, E.U.A.) de registro fisiográfico (Narco Biosystems, Houston, TX, E.U.A.). A veia jugular, foi também canulada, com cânula de polietileno (PE20), para injeção em *bolus* de volume fixo (200  $\mu$ L) das drogas e controles experimentais.

As substâncias utilizadas nos experimentos foram injetadas lentamente com intervalo mínimo de 15 minutos entre as injeções. As pressões arteriais médias (mmHg) foram calculadas segundo a fórmula abaixo:

$$\Delta PAM = PD + \frac{(PS - PD)}{3}$$

Onde:

$\Delta PAM = \Delta$  da variação da pressão arterial

PD = pressão diastólica

PS = pressão sistólica

A frequência cardíaca foi acompanhada por tacômetro acoplado ao polígrafo (Narco Biosystems, Houston, TX, E.U.A.). Após um período controle inicial de 20 minutos com registro contínuo da pressão o EABU foi injetado na forma *bolus* de volume constante (200  $\mu$ L), nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg em animais normotensos. Os seguintes protocolos

realizada dissecação dos músculos esterno-cleido-mastóideo e hióideo. A seguir foi realizada a dissecação da artéria carótida e canulação da mesma com cânula de polietileno (PE50) a qual foi acoplada a um transdutor de pressão Gould Statham P23 (Gould Co. Inc., Oxnard, CA, E.U.A.) de registro fisiográfico (Narco Biosystems, Houston, TX, E.U.A.). A veia jugular, foi também canulada, com cânula de polietileno (PE20), para injeção em *bolus* de volume fixo (200  $\mu$ L) das drogas e controles experimentais.

As substâncias utilizadas nos experimentos foram injetadas lentamente com intervalo mínimo de 15 minutos entre as injeções. As pressões arteriais médias (mmHg) foram calculadas segundo a fórmula abaixo:

$$\Delta PAM = PD + \frac{(PS - PD)}{3}$$

Onde:

$\Delta PAM$  =  $\Delta$  da variação da pressão arterial

PD = pressão diastólica

PS = pressão sistólica

A frequência cardíaca foi acompanhada por tacômetro acoplado ao polígrafo (Narco Biosystems, Houston, TX, E.U.A.). Após um período controle inicial de 20 minutos com registro contínuo da pressão o EABU foi injetado na forma *bolus* de volume constante (200  $\mu$ L), nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg em animais normotensos. Os seguintes protocolos

foram realizados, objetivando investigar o possível mecanismo de ação hipotensor, onde o efeito do EABU na dose 30mg/kg em animais normotensos foi analisado antes e após o pré tratamento com bloqueadores em doses suficientes para bloquear os agonistas específicos, a saber, hexametônio (HEX; 5 e 30 mg/kg), atropina (ATR; 1 mg/kg), fentolamina (FEN; 0,1 mg/kg), quentaserina (KEN; 20 mg/Kg), indometacina (IND; 40 mg/Kg), prometazina (PROM; 1mg/Kg) e propranolol (PRO; 2 mg/Kg), (n=6/grupo). Um experimento controle para verificar o efeito agudo de uma solução contendo a mesma concentração de potássio (13 mEq/L) verificado no EABU foi realizado por injeção da mesma em *bolus* de 300 µL na veia jugular.

### 3.3.11 Estudo da atividade vasodilatadora do EABU

Para melhor compreender o efeito hipotensor (não associado à bradicardia *in vivo*) do EABU, foi estudada sua ação direta em leito vascular de resistência para avaliação de seu potencial vasodilatador.

Para tanto, ratos Wistar com peso entre 250-300g foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/Kg, i.p.) e após indução de plano cirúrgico foram submetidos à incisão mediana da linha alba. A

seguir a artéria mesentérica superior foi canulada em sua bifurcação com a aorta abdominal e imediatamente perfundida com solução de Krebs-Henseleit (KHS; pH 7,4; 37 °C) a um fluxo constante de 4mL/min e continuamente aerado com carbogênio (95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). A pressão de perfusão foi medida por intermédio de um transdutor de pressão acoplado a um polígrafo (Narco Biosystems, Houston, TX, E.U.A.). Após um período de equilíbrio de 30 minutos a preparação foi pré-contraída com fenilefrina (1-5 µM) até que uma pressão estável (100-120 mmHg) fosse atingida.

Após atingido o platô vasoconstritor foram adicionados em volume constante (50µL): salina, nitroprussiato de sódio (10<sup>-6</sup> M) e EABU (0,1 a 25mg), (n=7/grupo).

### *3.3.12 Avaliação do potencial vasoprotetor do EABU*

Com o objetivo de verificar o potencial do EABU na prevenção da disfunção endotelial do diabetes, a função endotelial foi avaliada na aorta e no leito mesentérico de ratos diabéticos por estreptozotocina tratados com salina (n=8); insulina (n=8) ou EABU (n=8).

### 3.3.12.1 Anéis de aorta de rato

A reatividade vascular foi avaliada em segmentos de aorta torácica nos quais o endotélio foi preservado. A integridade funcional do endotélio foi testada por adição de uma dose única de acetilcolina ( $Ach-10^{-6} M$ ) aplicada no platô da resposta contrátil da fenilefrina ( $0,1 \mu g/ml$ ) e um relaxamento  $\geq 80\%$  considerado como função endotelial íntegra (FURCHGOTT e ZAWADSKI, 1980).

Ratos Wistar, machos, com peso entre 250 e 300g, diabéticos induzidos por injeção intraperitoneal de estreptozotocina ( $65 mg/Kg$ ), foram sacrificados por deslocamento cervical e a secção dos vasos cervicais. Após a abertura do tórax a aorta foi removida e cuidadosamente limpa de seu tecido conectivo em placa de *Petri* contendo solução de Krebs-Henseleit ( $pH 7,4$ ), mantida a  $37^{\circ}C$  e aerada constantemente com carbogênio.

A aorta torácica foi cortada em anéis de 5mm montadas horizontalmente sob tensão inicial de 1 g tensão em 5 ml de banhos para registros isométricos. Os anéis foram mantidos em solução de Krebs-Henseleit (KHS;  $pH 7,4$ ;  $37^{\circ}C$ ) a um fluxo constante de 4 mL/min e

continuamente aerado com carbogênio (95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). Curvas de concentração-resposta a vasodilatadores, endotélio dependente (acetilcolina; 10<sup>-12</sup> a 10<sup>-3</sup> M) ou endotélio independente (nitroprussiato de sódio; 10<sup>-12</sup> a 10<sup>-3</sup> M), foram realizadas em tecidos pré-contraídos submaximamente (~ 50-60 %) com fenilefrina. As alterações de tensão foram registradas por meio de transdutores de força (Narco Biosystems, Houston, Texas, E.U.A.) acoplado a um polígrafo de quatro-canal (Narco Biosystems).

As curvas concentração-resposta para os agonistas endotélio-dependente (Ach) ou endotélio-independente (SNP) foram comparadas entre os grupos nos seguintes parâmetros: resposta máxima (R<sub>máx</sub>) e PD<sub>2</sub> (cologaritmo da CE<sub>50</sub> definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima). A disfunção endotelial nos grupos foi medida de acordo com a seguinte fórmula:

$$DE (\%) = 100 - \frac{(R_{máx} Diab \times 100)}{(R_{máx} Eugli)}$$

Onde:

DE (%) = Percentual de disfunção endotelial.

R<sub>máx</sub> Diabx100 = Resposta vasodilatadora máxima obtida com agonista endotélio-dependente nos tecidos obtidos de ratos diabéticos pela estreptozotocina

R<sub>máx</sub> Eugli = Resposta vasodilatadora máxima obtida com o agonista endotélio-independente nos tecidos obtidos de ratos euglicêmicos.

### 3.3.12.2 *Leito vascular mesentérico*

A artéria mesentérica superior foi identificada e os ramos pancreático-duodenal, íleo-cecal e cecal desta artéria foram ligados. A artéria mesentérica foi cuidadosamente dissecada e canulada na porção distal, próxima a aorta, utilizando tubo de polietileno (PE20). O mesentério foi separado do intestino e imediatamente levado ao sistema de perfusão com KHS (pH 7,4; 37 °C), constantemente aerada com 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub> perfundida a fluxo constante (4mL/min) e as alterações em pressão de perfusão foram medidas por meio de um transdutor de pressão Statham P23 (Gould, Oxnard, CA, E.U.A.) acoplado a um polígrafo (Narco Biosystems).

As curvas de concentração-resposta a acetilcolina (ACh 10<sup>-9</sup> a 10<sup>-3</sup> M) ou nitroprussiato de sódio (SNP 10<sup>-9</sup> a 10<sup>-3</sup> M) foram analisadas isoladamente e comparadas entre grupos. Os relaxamentos foram expressos como porcentagem das contrações de fenilefrina.

Os parâmetros analisados foram os mesmos referidos anteriormente, para os experimentos realizados com anéis de aorta, no item 3.3.12.1.

### 3.3.13 Determinação das concentrações de D-quiró-inositol (DCI) na urina de ratos diabéticos por aloxana

Foram utilizados ratos (*Rattus norvergicus*) da cepa Wistar, machos, com diabetes induzida por aloxana (45 mg/Kg, i.v.) submetidos a jejum prévio de 12 horas (SANNOMIYA *et al*, 1997). O diagnóstico de diabetes foi realizado 72 hs após indução em amostras venosas, obtidas por punção no plexo infraorbital e somente animais com glicemia  $\geq 200$  mg/dL foram incluídos no estudo. Além de animais diabéticos, foram utilizados animais com glicemia normal como controle euglicêmico. Todos os animais foram previamente adaptados nas gaiolas metabólicas por 5 dias antes de iniciar os testes, os mesmos foram divididos em 3 grupos (I, II e III), que foram tratados por 3 semanas como indicado na Tabela 6.

**Tabela 6.** Grupos experimentais selecionados para avaliação do perfil glicêmico e lipídico, dosagem de sódio, potássio e D-qui-ro-inositol (DCI) e ganho de peso corporal, após gavagem oral com o extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e salina, tratados diariamente por 3 semanas

	<b>Grupo</b>	<b>Droga/Dose/ período/ via</b>	<b>n</b>
I-	( <i>Controle hiperglicêmico</i> ) Diabético-Aloxana + Salina	Salina/1 mL/Kg/24h/ v.o.	6
II-	Diabético-Aloxana + EABU 400	EABU/400 mg/Kg/24h/ v.o	8
III-	( <i>Controle euglicêmico</i> ) Euglicêmico + Salina	Salina/1 mL/Kg/24h/ v.o.	7

Amostras de urina foram coletadas diariamente no período da manhã (8:00 horas), filtradas e armazenadas em freezer -70 °C (Modelo ULT 2586-3D14, Revco Scientific, Inc. Asheville, N.C., EUA). Uma alíquota foi retirada para dosagem de sódio e potássio por fotometria de chama e outra alíquota liofilizada para dosagem do *d*-qui-ro inositol (DCI).

No início e no término do tratamento, amostras de sangue foram coletadas para avaliação do perfil glicêmico e lipídico, onde as dosagens foram realizadas segundo a metodologia descrita anteriormente no item 3.2.2.

### 3.3.15 Análise estatística

Os dados da função vascular *in vitro* foram expressos com porcentagem das contrações prévias induzidas por fenilefrina e assim como os valores brutos dos parâmetros bioquímicos, foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média e os dados brutos obtidos *in vitro* e *in vivo* (força em g, pressão em mmHg e fluxo em mL/min; valores dos perfis bioquímicos) foram analisados para diferenças estatísticas através da análise de variância ANOVA por intermédio do programa de computador SIGMA STAT. Os gráficos e os cálculos de CE<sub>50</sub> e PD<sub>2</sub> foram realizados utilizando-se o programa de computador GRAPHPAD PRISM *software* versão 3.00 *for Windows*, onde as CE<sub>50</sub> e DL<sub>50</sub> foram calculadas por interpolação semilogarítmica e considerados como a concentração da substância capaz de produzir 50% do seu efeito máximo, no caso da DL<sub>50</sub> a morte.

---

**RESULTADOS**



MATOS, 2002

## 4. RESULTADOS

### 4.1 Identificação e quantificação de inositóis no extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU)

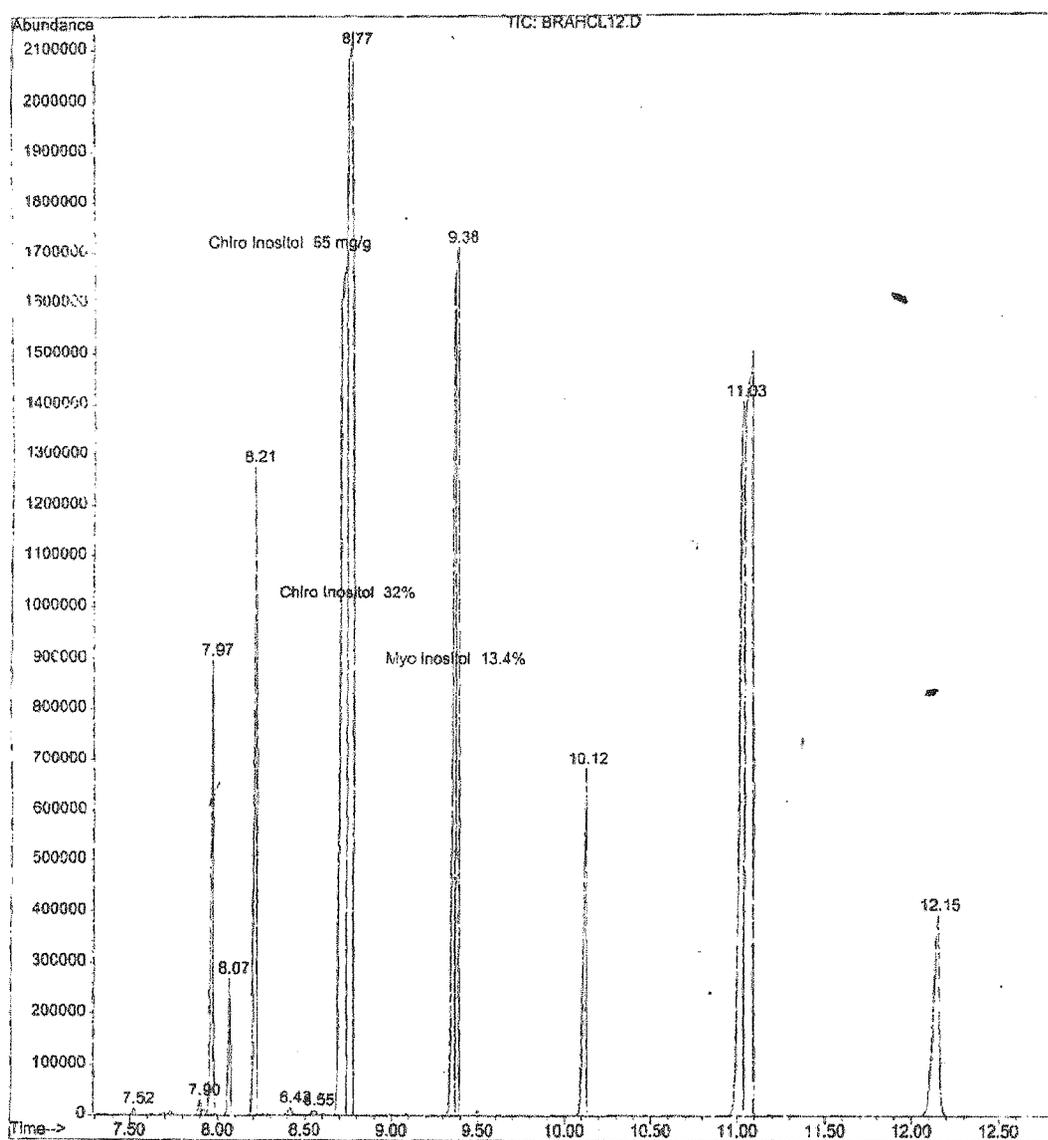
No levantamento bibliográfico efetuado no *Chemical Abstracts* não foi encontrado nenhum relato da composição química de *Bauhinia unguolata* L.

Neste trabalho foi efetuada a análise química específica para identificação e quantificação de inositóis no extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*. Para isso foram realizadas duas hidrólises em uma alíquota do EABU que originaram dois hidrolisados denominados EABU-hidrolisado-HCl (hidrolisado com HCl do Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) e EABU-hidrolisado-TFA (hidrolisado com TFA, do Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) respectivamente.

Ambos hidrolisados (EABU-hidrolisado-HCl e EABU-hidrolisado-TFA) sofreram tratamentos químicos com posterior análise por cromatografia gás-liquido em espectrômetro de massa (CGL/EM) e deste procedimento originaram-se dois cromatogramas (Figura 10 e 11).

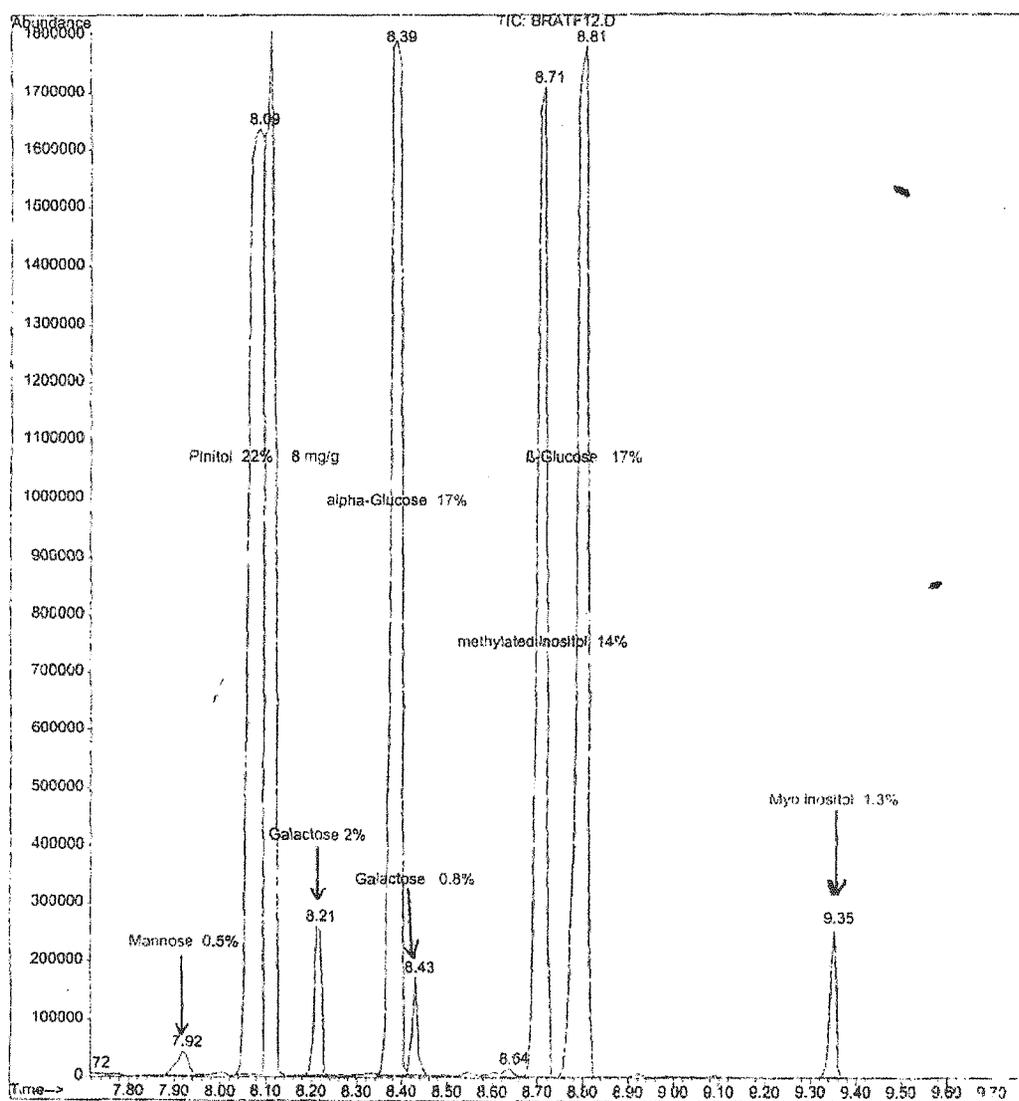
Os cromatogramas foram interpretados através da comparação com espectros de massa padronizados da literatura.

Na Figura 10 é possível observar a presença de quiro-inositol que compreende 32% do EABU-hidrolisado-HCl e também mio-inositol que compreende 13,4%. A quantidade de D-quiro inositol (DCI) no extrato seco foi determinada em 6,5 % (g/100 mL).



**Figura. 10:** Cromatograma do hidrolisado com HCl do Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU-hidrolisado-HCl), com identificação dos picos de inositóis

Dos constituintes químicos do EABU-hidrolisado-TFA, registrados no cromatograma (Figura 11), três são inositóis, sendo majoritários o pinitol (22,0%) e o metilado - inositol (14,0%) e em menor teor o mio-inositol (1,3%); os demais constituintes são oses. O percentual de pinitol no extrato seco foi determinado como sendo 0,8 % (g/100 mL).



**Figura.11:** Cromatograma do hidrolisado com TFA do Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU-hidrolisado-TFA), com identificação dos picos de inositóis e oses

Na Tabela 7 é possível observar o teor e o tempo de retenção dos constituintes químicos identificados nos cromatogramas obtidos dos dois hidrolisados (EABU-hidrolisado-HCl e EABU-hidrolisado-TFA) originados do EABU.

**Tabela 7.** Constituintes químicos observados nos dois hidrolisados (EABU-hidrolisado-HCl e EABU-hidrolisado-TFA) obtidos a partir do EABU

CONSTITUINTES	TEOR (%)	TEMPO DE RETENÇÃO
<b>EABU-hidrolisado-HCl</b>		
<i>(hidrolisado com HCl do Extrato Aquoso de Bauhinia unguiculata)</i>		
<i>mio</i> - inositol	13,4	9,38
D - <i>quiro</i> inositol	32,0	8,77
<b>EABU-hidrolisado-TFA</b>		
<i>(hidrolisado com TFA do Extrato Aquoso de Bauhinia unguiculata)</i>		
$\alpha$ - glucose	17,0	8,39
$\beta$ - glucose	17,0	8,81
galactose	2,0	8,21
galactose	0,8	8,43
manose	0,5	7,92
metilado - inositol	14,0	8,71
<i>mio</i> - inositol	1,3	9,35
pinitol	22,0	8,09

Foi demonstrado que inositóis, como pinitol e D-*quiro*-inositol, encontrados nos derivados hidrolisados do EABU, possuem efeito hipoglicemiante agudo e crônico, tanto por administração endovenosa como por administração oral (NARAYANAN, 1987; FONTELES *et al.*, 1996).

## 4.2 Quantificação dos teores de sódio e potássio no extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*

Da quantificação dos teores de sódio e potássio do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) obteve-se os valores  $126 \pm 9,3$  e  $13,6 \pm 2,6$  mEq/L respectivamente para os referidos íons.

## 4.3 Efeitos hipocráticos e determinação da dose letal media (DL<sub>50</sub>)

O EABU (Extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*) não apresentou efeitos tóxicos significativos quando administrado por via oral em camundongos até uma dose de 3000 mg/Kg.

Administrado por via **intraperitoneal**, em doses superiores a 300 mg/Kg, o EABU, induziu piloereção, “*scratching*” em patas e focinho e posterior morte de alguns animais (n=10/grupo). A DL<sub>50</sub> calculada, após a administração intraperitoneal do extrato aquoso da planta foi de 440 [259-621]mg/kg, (Tabela 8).

**Tabela 8.** Doses utilizadas do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) no teste de toxicidade aguda e mortalidades obtidas após 24 horas da administração intraperitoneal deste extrato ou do veiculo (0,9% de salina) em camundongos (n=10/grupo)

Dose do EABU (mg/Kg)	Animais mortos	Animais vivos	% mortos	% corrigida de animais mortos	Valor de probitos
3000	10	00	100	97,50	6,9675
2000	09	01	90	87,75	6,2820
1000	09	01	90	87,75	6,2820
750	07	03	70	68,25	5,5240
500	03	07	30	29,25	4,4760
300	04	06	40	39,00	4,7470
100	00	10	00	2,50	3,0325
30	00	10	00	2,50	3,0325
controle	00	10	00	00	2,5

Os parâmetros hematológicos ligados a concentração de hemoglobina e a contagem de células no sangue [hemácias, plaquetas, leucócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos, monócitos e linfócitos)] não foram significativamente alteradas (Tabela 10). Os parâmetros bioquímicos séricos avaliados (concentração de glicose, uréia, creatinina, transaminase glutâmica oxalacética (TGO), transaminase glutâmica pirúvica (TGP), colesterol total e triglicérides), também não foram significativamente alterados pelo tratamento com EABU a dose de 400mg/Kg (Tabela 11).

**Tabela 10.** Parâmetros hematológicos de ratos Wistar antes e depois do tratamento oral por 30 dias com 400 mg/Kg/dia EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) ou salina (0,1 mL/Kg)

Parâmetros	Salina		EABU	
	Dia 0 (n=20)	Dia 30 (n=16)	Dia 0 (n=20)	Dia 30 (n=18)
<b>Hemácias x 10<sup>6</sup>/mm<sup>3</sup></b>	6,9 ± 1,9 [6,4 - 7,4]	6,25 ± 1,70 [5,796 - 6,704]	7,5 ± 0,8 [7,1-7,8]	6,1 ± 0,3 [5,3 - 6,7]
<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	14,6 ± 0,6 [13,1 - 16,2]	14,97 ± 0,30 [14,20 - 15,74]	14,9 ± 1,2 [14,5 - 15,28]	18,4 ± 1,3 [15 - 15,6]
<b>Hematócrito%</b>	45,3 ± 0,6 [43,90 - 46,77]	48,17 ± 0,54 [46,77 - 49,56]	46,1 ± 1,4 [41,4 - 50,9]	49,2 ± 1,6 [45,9 - 52,5]
<b>MCV (fl)</b> (Volume Corpuscular Médio)	66,5 ± 1,6 [62,26 - 70,74]	89,83 ± 1,17 [86,83 - 92,83]	68,1 ± 1,5 [61 - 75,2]	87,2 ± 1,9 [84,7 - 89,8]
<b>MCH (pg)</b> (Hemoglobina Corpuscular Média)	21,2 ± 0,7 [19,24 - 23,09]	24 ± 0,82 [21,90 - 26,10]	19,6 ± 1,3 [18 - 21,3]	25,3 ± 1,7 [23 - 27]
<b>MCHC (%)</b> (Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média)	32,2 ± 1,1 [29,32 - 35,62]	31,17 ± 0,48 [29,94 - 32,39]	30,9 ± 2,3 [30,3 - 31,4]	30,3 ± 2,1 [29,7 - 30,9]
<b>Leucócitos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup></b>	11870 ± 900,6 [9833 - 13910]	10880 ± 1271 [7616 - 14150]	12080 ± 739,3 [10530 - 13630]	13170 ± 1677 [9636 - 16710]
<b>Neutrófilos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup></b>	3378 ± 628 [1957 - 4798]	2183 ± 321 [1757 - 3008]	3406 ± 377,4 [2616 - 4196]	3996 ± 822,8 [2260 ± 5731]
<b>Basófilos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup></b>	0,0 [0,0]	0,0 [0,0]	0,0 [0,0]	0,0 [0,0]
<b>Linfócitos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup></b>	8104 ± 546,5 [[6868 - 9340]	8307 ± 988 [5766 - 10850]	12430 ± 4290 [3449-21410]	9369 ± 1027 7203-11540
<b>Monócitos x 10<sup>3</sup>/mm<sup>3</sup></b>	178 ± 28,11 [114,4 - 241,6]	109 ± 12,7 [76,2 - 141]	271 ± 58,7 [148,1-393,9]	328,3 ± 99,9 [117,4-539,2]

Os valores representam média ± erro padrão da média (E.P.M.) com respectivos intervalos de confiança de 95% colocados entre colchetes [ ].

Não foram observados diferenças estatísticas significativas entre os grupos.

\*, p<0,05; ANOVA, segundo Tukey-Kramer.

**Tabela 11.** Perfil bioquímico de ratos Wistar antes e depois do tratamento oral por 30 dias com 400 mg/Kg/dia EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) ou salina 0,09% (0,1 mL/Kg)

Parâmetros	Salina		EABU	
	Dia 0 (n=20)	Dia 30 (n=16)	Dia 0 (n=20)	Dia 30 (n=18)
Glicose (mg/dL)	95,75±8,6	64,33±5,9	83,34±3,9	93,32±4,2
Colesterol (mg/dL)	57,84±4,7	54,10±6,7	69,46±4,6	74,91±5,3
Triglicerídeos (mg/dL)	77,62±8,3	83,30±7,3	94,64±5,7	107,34±6,8
Albumina (mg/dL)	3,03±0,62	3,8±0,18	2,65±0,16	2,83±0,16
Uréia (mg/dL)	44±3,1	40,3±3,0	52,1±2,5	46,9±2,0
Creatinina (mg/dL)	0,45±0,03	0,41±0,011	0,48±0,03	0,50±0,02
TGO (U/mL) (Transaminase Glutâmica Oxalacética)	50,5±1,7	46,9±2,0	101,3±7,0	98,9±9,2
TGP (U/mL) (Transaminase Glutâmica Pirúvica)	15,1±1,4	17,0±1,0	40,6±3,1	40,6±2,4
Bilirrubina Total (mg/dL)	0,18±0,03	0,17±0,019	0,23±0,03	0,25±0,02
Bilirrubina Direta (mg/dL)	0,04±0,004	0,03±0,003	0,10±0,01	0,24±0,06
Bilirrubina Indireta (mg/dL)	0,11±0,03	0,14±0,06	0,13±0,02	0,13±0,015

A análise histopatológica não revelou alterações na estrutura padrão dos tecidos estudados. A administração de 400mg/kg de EABU em ratos durante 30 dias não induziu manifestações clínicas de toxicidade, alterações hematológicas ou alterações de marcadores bioquímicos da função hepática e renal.

#### 4.5 Atividade hipoglicemiante dos extratos de *Bauhinia unguolata* e dos mediadores putativos da insulina em ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) após duas horas de infusão intravenosa

A infusão intravenosa contínua do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) nas taxas de 0,25; 0,5 e 1 mg/Kg/min induziram queda nas concentrações plasmáticas de glicose de maneira tempo dependente (Tabela 12). A queda percentual máxima na glicemia foi de  $2,2 \pm 0,8\%$  ( $244,7 \pm 14,2$  vs.  $239,4 \pm 10,7$   $p > 0,05$ ) nos ratos diabéticos infundidos com salina e de  $19,9 \pm 1,7\%$  ( $282,1 \pm 6,6$  mg/dL vs.  $226,11 \pm 8,0$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ );  $20,8 \pm 3,3\%$  ( $315,9 \pm 2,0$  mg/dL vs.  $250,1 \pm 17,6$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ );  $39,3 \pm 4,7\%$  ( $301,8 \pm 12,1$  mg/dL vs.  $183,1 \pm 16,5$  mg/dL;  $p < 0,01$ ,  $n=6$ ), após a infusão de EABU nas taxas supracitadas (Figura 12a).

Um efeito hipoglicemiante ainda maior foi observado em ratos tratados com extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) nas mesmas taxas de infusão. A queda máxima percentual nas concentrações glicêmicas foi de  $32,4 \pm 4,1\%$  ( $293,3 \pm 10,5$  mg/dL vs.  $198,2 \pm 7,8$  mg/dL;  $p < 0,01$ ,  $n=6$ );  $39,6 \pm 4,8\%$  ( $304,3 \pm 15,2$  mg/dL vs.  $183,9 \pm 11,6$

mg/dL;  $p < 0,01$ ,  $n=6$ );  $59,6 \pm 6,3\%$  ( $289,3 \pm 13,7$  mg/dL vs.  $116,8 \pm 11,2$  mg/dL;  $p < 0,01$ ,  $n=6$ ), respectivamente (Figura 12b).

Por outro lado, a infusão intravenosa de D-quirol inositol (DCI), pinitol (me-DCI) nas taxas de  $0,4$  mg/Kg/min induziram queda semelhante nas concentrações glicêmicas. A queda máxima percentual na glicemia foi de  $28,2 \pm 3,6\%$  ( $255,1 \pm 3,8$  mg/dL vs.  $189,4 \pm 7,9$  mg/dL;  $p < 0,01$ ,  $n=6$ ) e de  $38,2 \pm 4,3\%$  ( $290,4 \pm 14$  mg/dL vs.  $179,4 \pm 12,2$  mg/dL;  $p < 0,001$ ,  $n=6$ ), respectivamente (Figura 13a). Neste mesmo protocolo, a infusão de insulina ( $20$  nM/Kg/min) induziu severa queda na glicemia de um valor inicial de  $285 \pm 20$  mg/dL para  $70 \pm 7,3$  mg/dL; queda de  $75,4 \pm 6,3\%$ ;  $p < 0,001$ ,  $n=6$ , ao final de  $120$  min (Figura 13a).

**Tabela 12.** Efeito agudo do EABU (Extrato aquoso de *Bauhinia unguolata*), EEBU (Extrato etanólico de *Bauhinia unguolata*), Pinitol, D-qui-ro-ino-sitol e insulina sobre a concentração plasmática de glicose em ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) após infusão intravenosa

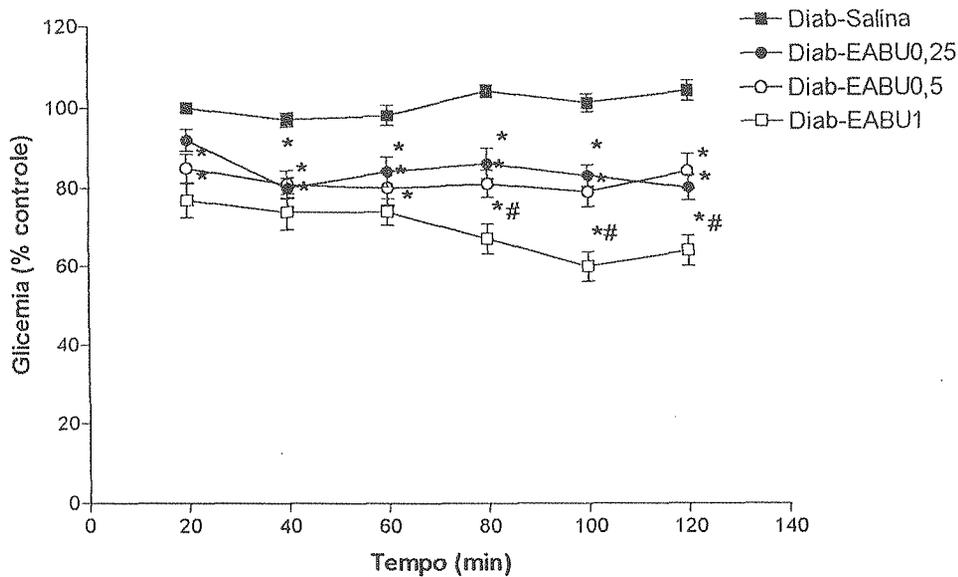
Concentração plasmática de glicose (mg/dL)										
Tempo (min)	I Salina	II AEBU 0.25mg/kg/min	III AEBU 0.5mg/kg/min	IV AEBU 1mg/kg/min	V EEBU 0.25mg/kg/min	VI EEBU 0.5mg/kg/min	VII EEBU 1mg/kg/min	VIII Pinitol 0.4mg/kg/min	IX D-qui-ro-ino-sitol 0.4mg/kg/min	X Insulina 20nM/Kg/min
0	244,7±14,2	282,1±6,6	315,9±20,0	301,8±12,1	293,3±10,5	304,3±15,2	289,3±13,7	290,4±14,0	255,1±3,8	285±20
20	246,9±11,1	261,4±7,9	268,8±13,6	234,0±19,3 <sup>b</sup>	273,9±9,7	262,8±11,7	268,8±11,3	247,6±11,8 <sup>b</sup>	236,0±4,4	255±14 <sup>a,b</sup>
40	239,4±10,7	228,3±10,2 <sup>b</sup>	257,4±19,5	223,8±16,5 <sup>b</sup>	242,9±10,2 <sup>b</sup>	248,6±12,3 <sup>b</sup>	224,8±13,2 <sup>b</sup>	215,9±12,2 <sup>b</sup>	210,3±5,6 <sup>b</sup>	199±16 <sup>a,b</sup>
60	240,2±12,5	237,5±9,5 <sup>b</sup>	255,5±12,8 <sup>b</sup>	224,5±11,1 <sup>b</sup>	227,7±7,8 <sup>b</sup>	247,3±12,0 <sup>b</sup>	159,2±16,1 <sup>b</sup>	220,1±17,2 <sup>b</sup>	198,7±7,1 <sup>a,b</sup>	124±13 <sup>a,b</sup>
80	254,6±10,7	243,1±7,4 <sup>b</sup>	257,2±20,9 <sup>b</sup>	203,7±12,7 <sup>b</sup>	209,8±6,2 <sup>b</sup>	213,7±17,2 <sup>b</sup>	134,3±9,7 <sup>b</sup>	202,6±12,0 <sup>a,b</sup>	192,1±8,0 <sup>a,b</sup>	95±8 <sup>a,b</sup>
100	248,8±18,4	234,3±7,2 <sup>b</sup>	250,1±17,6 <sup>b</sup>	183,1±16,5 <sup>b</sup>	205,3±11,3 <sup>b</sup>	208,2±13,1 <sup>b</sup>	127,3±11,6 <sup>b</sup>	193,4±12,2 <sup>a,b</sup>	183,1±7,9 <sup>a,b</sup>	85±5,6 <sup>a,b</sup>
120	254,7±9,7	226,0±11,8 <sup>b</sup>	266,5±16,9 <sup>b</sup>	194,4±26,5 <sup>b</sup>	198,2±7,8 <sup>b</sup>	183,9±11,6 <sup>b</sup>	116,8±11,2 <sup>b</sup>	179,4±12,2 <sup>a,b</sup>	184,4±2,8 <sup>a,b</sup>	70±7,3 <sup>a,b</sup>

Os dados estão expressos como média ± S.E.M de cada grupo com 6 animais.

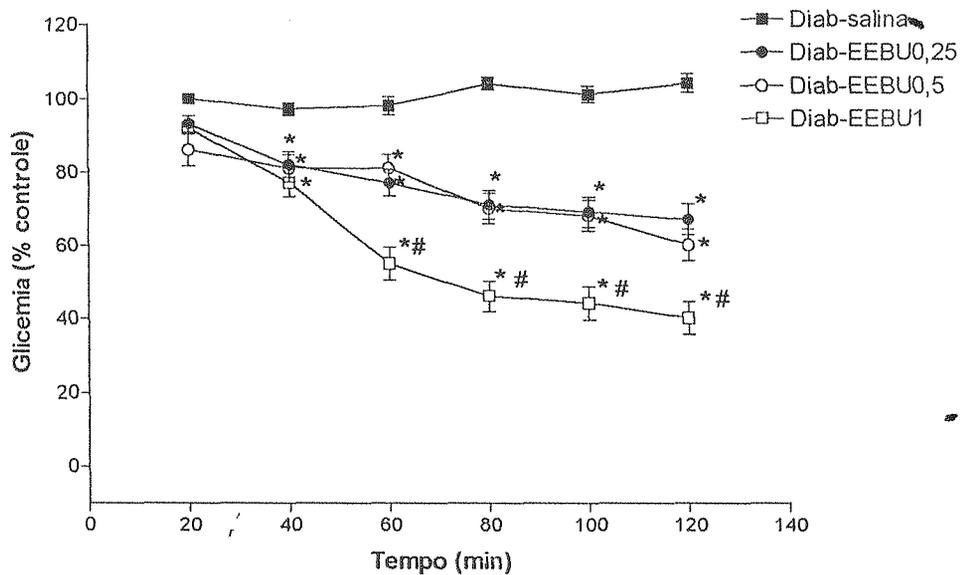
<sup>a</sup> p<0.05 versus. Grupo salina ao mesmo tempo.

<sup>b</sup> p<.05 versus. Tempo zero (antes da infusão).

A

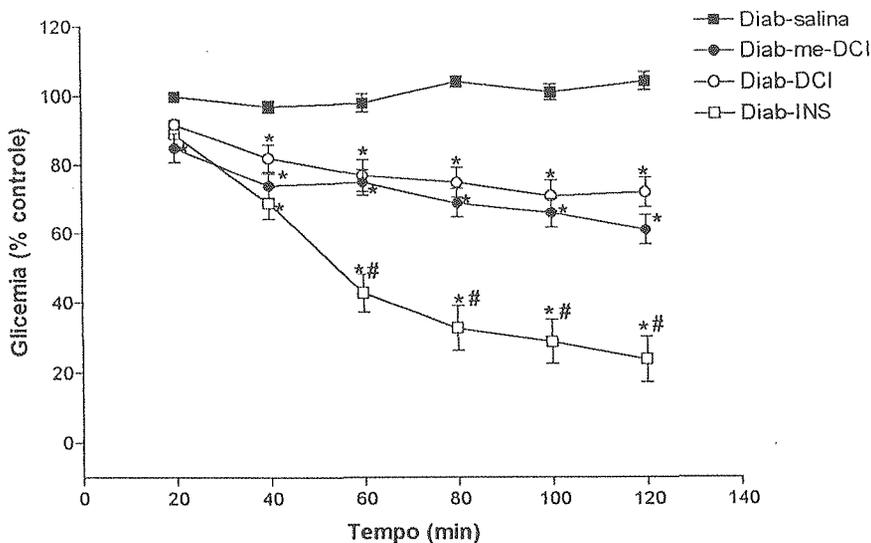


B

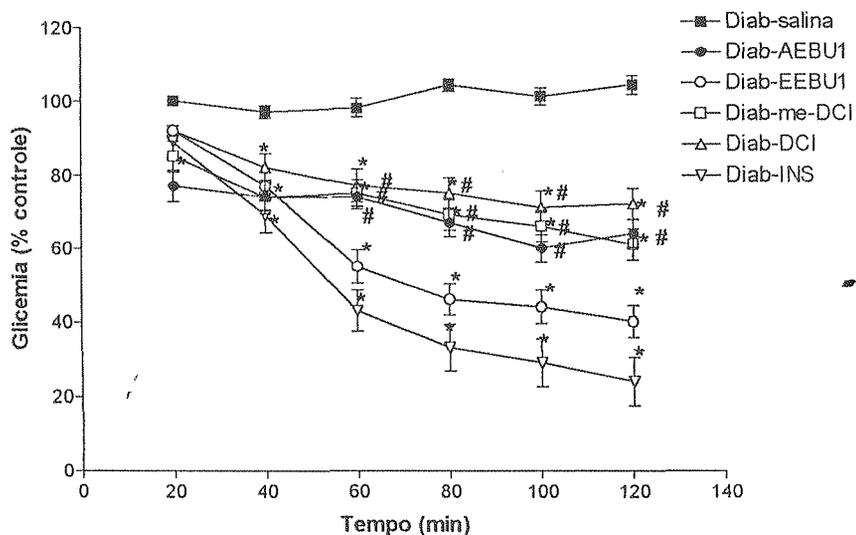


**Figura 12.** O efeito agudo da infusão intravenosa do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da infusão do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). As taxas de infusão para ambos os extratos foram de 0,25; 0,5 e 1 mg/Kg/min. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU0,25 e Diab-EEBU0,5.

A



B



**Figura 13.** O efeito agudo da infusão intravenosa de D-quirosinose (DCI), metil-D-quirosinose (me-DCI) e extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da infusão do extrato aquoso (EABU) ou etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) na taxa de 1 mg/Kg/min comparada com o efeito da infusão de 0,4 mg/Kg/min de ambos os inositóis [D-quirosinose (DCI) e pinitol (me-DCI)] e de 20 nm/Kg/min de insulina (INS). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-insulina

#### 4.6 Atividade hipoglicemiante dos extratos orgânicos de *Bauhinia unguolata* e de mediadores putativos da insulina em ratos diabéticos pela estreptozotocina após tratamento oral

O extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) administrado oralmente por gavagem induziu decréscimo agudo e duradouro (<120 min) na glicemia que alcançou um máximo de  $44,7 \pm 3,5\%$  ( $298 \pm 13,2$  mg/dL *versus*  $164,7 \pm 4,9$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) (figura 14a). O extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) produziu uma queda máxima de  $58,2 \pm 4,6\%$  ( $295,5 \pm 11,3$  mg/dL para  $123,2 \pm 4,8$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) (Tabela 12, Figura 14b). A administração de D-quirositol (DCI) causou uma queda na glicemia de  $26 \pm 3,8\%$  ( $242,4 \pm 15,6$  mg/dL para  $179,4 \pm 21$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) e de me-DCI uma hipoglicemia máxima percentual de  $39,3 \pm 2,8$  ( $254,7 \pm 13,6$  mg/dL para  $154,7 \pm 18$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) (Figura 15a). Usando o mesmo protocolo a glibenclamida, uma sulfoniluréia usada como agente anti-diabético oral, induziu um efeito hipoglicêmico semelhante ao decréscimo máximo  $59,1 \pm 5,7\%$  ( $266,2 \pm 9,7$  *versus* de mg/dL.  $108,8 \pm 8,6$ ,  $p < 0,05$ ,  $n=6$ ) (Tabela 13, Figura 15b).

**Tabela 13.** Efeito agudo do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU), Pinitol, D-qui-ro-inositol e glibenclamida sobre a concentração plasmática de glicose em ratos-diabéticos por estreptozotocina (STZ) após tratamento oral

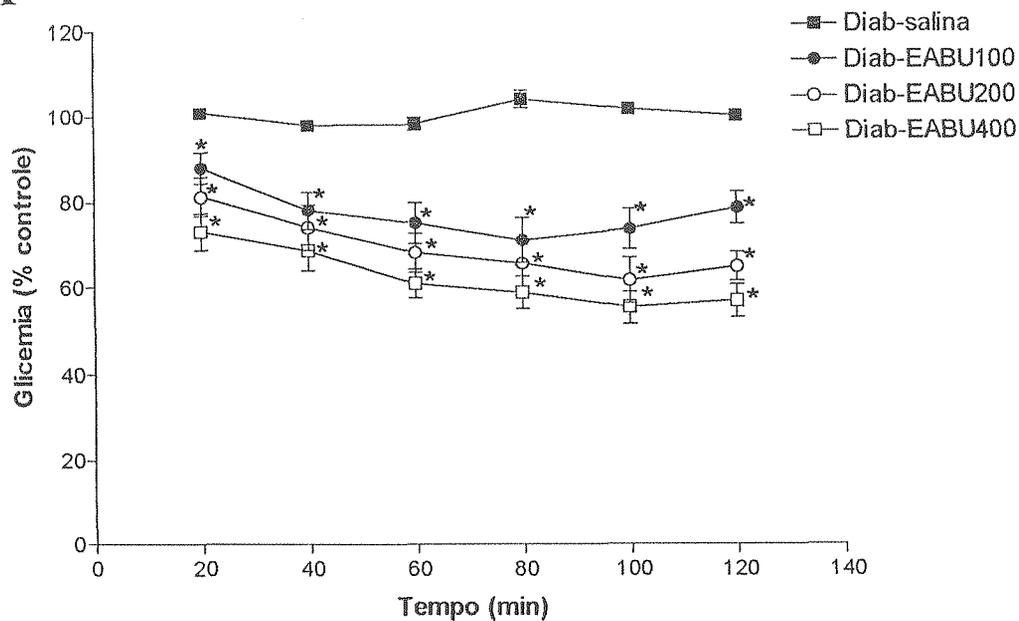
Concentração plasmática de glicose (mg/dL)										
Tempo (min)	I Salina	II EABU 100mg/kg	III EABU 200mg/kg	IV EABU 400mg/kg	V EEBU 100mg/kg	VI EEBU 200mg/kg	VII EEBU 400mg/kg	VIII Pinitol 20mg/kg	IX d-qui-ro-inositol 20mg/kg	X Glibenclamida 2mg/kg
0	244,7±14,2	291,3±10,4	289,1±14,3	298,0±13,2	278,9±10,1	287,1±12,3	295,5±11,3	254,7±13,6	242,4±15,6	266,5±9,7
20	246,9±11,1	256,4±11,2	234,9±12,3 <sup>a,b</sup>	217,6±7,5 <sup>a,b</sup>	242,1±11,2	217,3±11,7 <sup>a,b</sup>	187,3±7,8 <sup>a,b</sup>	239,3±14,3	234,3±16,3	160,3±8,3 <sup>a,b</sup>
40	239,4±10,7	227,3±9,6 <sup>b</sup>	214,2±7,5 <sup>a,b</sup>	204,5±9,6 <sup>a,b</sup>	216,3±10,8 <sup>a,b</sup>	192,3±10,3 <sup>a,b</sup>	168,2±10,3 <sup>a,b</sup>	216,6±13,6 <sup>b</sup>	228,7±13,1	140,9±7,2 <sup>a,b</sup>
60	240,2±12,5	218,7±8,6 <sup>b</sup>	196,8±3,5 <sup>a,b</sup>	181,4±18,1 <sup>a,b</sup>	202,3±8,7 <sup>a,b</sup>	183,3±9,5 <sup>a,b</sup>	143,2±12,2 <sup>a,b</sup>	204,7±18,3 <sup>a,b</sup>	218,4±15,1 <sup>b</sup>	123,3±6,8 <sup>a,b</sup>
80	254,6±10,7	206,8±7,0 <sup>a,b</sup>	189,6±3,6 <sup>a,b</sup>	175,2±4,3 <sup>a,b</sup>	197,2±9,5 <sup>a,b</sup>	171,2±7,2 <sup>a,b</sup>	148,4±8,3 <sup>a,b</sup>	186,4±15,8 <sup>a,b</sup>	214,3±17,3 <sup>b</sup>	114,3±7,5 <sup>a,b</sup>
100	248,8±18,4	214,5±7,3 <sup>a,b</sup>	178,1±3,4 <sup>a,b</sup>	164,7±4,9 <sup>a,b</sup>	188,5±7,3 <sup>a,b</sup>	158,3±6,1 <sup>a,b</sup>	123,2±4,8 <sup>a,b</sup>	179,5±14,3 <sup>a,b</sup>	194,6±13,7 <sup>a,b</sup>	109,7±9,6 <sup>a,b</sup>
120	253,6±9,7	228,8±4,1 <sup>a,b</sup>	187,2±2,6 <sup>a,b</sup>	169,1±4,1 <sup>a,b</sup>	203,0±8,2 <sup>a,b</sup>	161,2±5,6 <sup>a,b</sup>	128,0±6,2 <sup>a,b</sup>	154,7±18 <sup>a,b</sup>	179,4±21 <sup>a,b</sup>	108,8±8,3 <sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> As informações estão expressas como média ± S.E.M de cada grupo com 6 animais

<sup>b</sup> p<0.05 versus. Grupo salina ao mesmo tempo.

<sup>c</sup> p<0.05 versus. Tempo zero (antes da infusão).

A



B

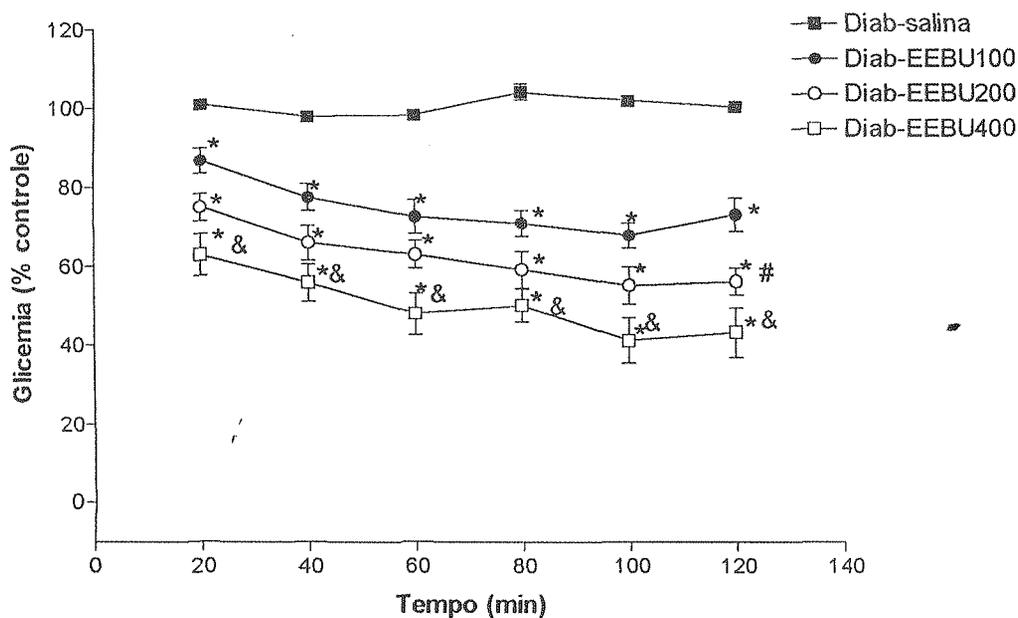
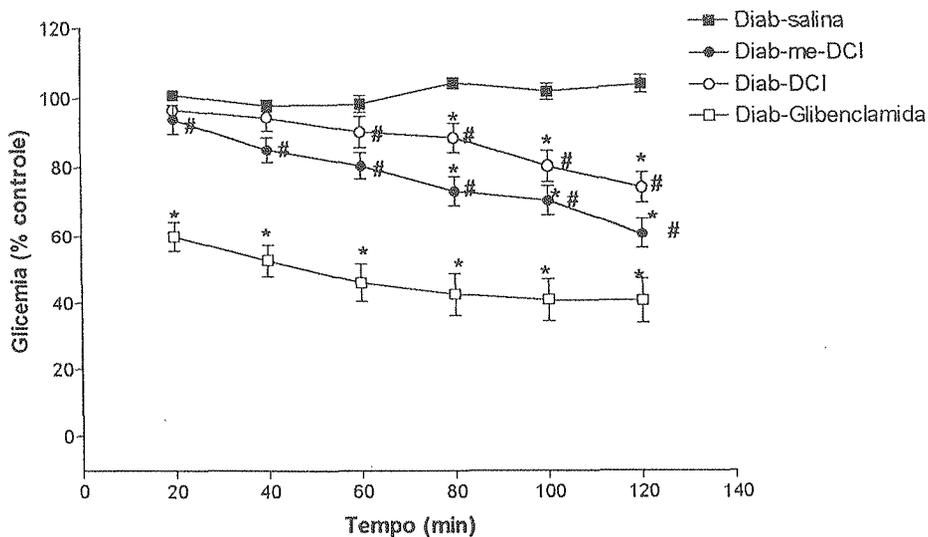
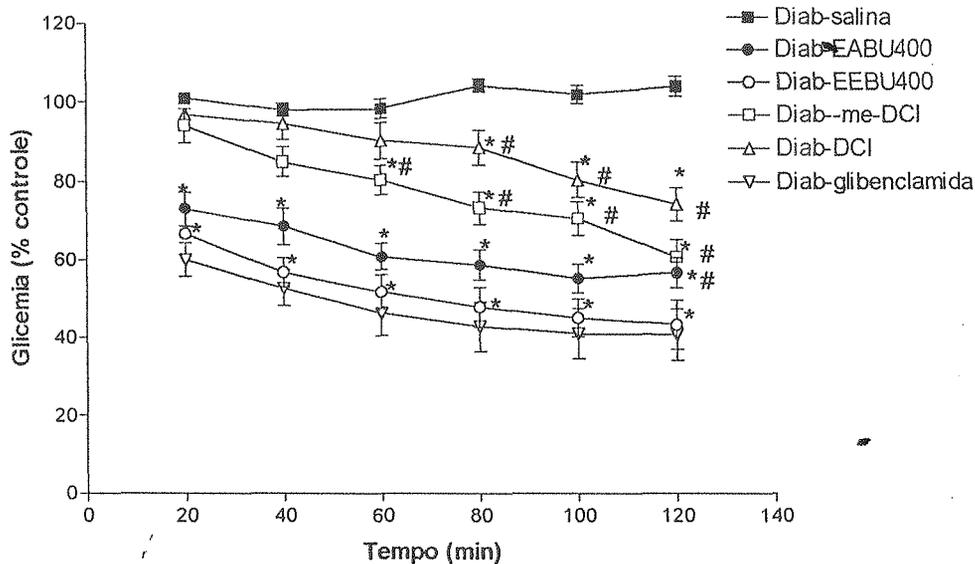


Figura 14. O efeito agudo após administração oral do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado o efeito da administração oral do extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6). As doses para ambos os extratos foram de 100; 200 e 400 mg/Kg. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU200. & p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-EEBU100.

A



B



**Figura 15.** O efeito agudo após administração oral de 20 mg/Kg D-quirositol (DCI) ou metil-D-quirositol (me-DCI) na glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina (Diab) comparado com o efeito da glibenclamida (2 mg/Kg) é mostrado em (A). No painel (B) é mostrado a comparação entre os efeitos hipoglicemiantes após administração oral de 400 mg/Kg de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) ou extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) comparado com o efeito dos inositóis D-quirositol (DCI) ou metil-D-quirositol (me-DCI) (20 mg/Kg) e glibenclamida (2 mg/Kg). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (n=6/grupo). As doses extratos foram de 0,25; 0,5 e 1 mg/Kg/min. \*p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-salina. # p<0,05, ANOVA seguida de Tukey-Kramer vs. Diab-glibenclamida.

#### 4.7 Atividade hipoglicemiante de extratos de *Bauhinia unguolata* no teste de tolerância oral à glicose em ratos

O tratamento com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU) (400mg/Kg, v.o., n=8 por grupo) reduziu significativamente ( $p < 0,05$ ) os níveis glicêmicos dos animais nos períodos de 30, 60 e 90 minutos (Tabela 14, Figura 16) após uma sobrecarga de glicose (3g/Kg, v.o.) em comparação ao grupo que recebeu apenas a sobrecarga de glicose, de forma similar aos animais tratados com glibenclamida (2mg/Kg, v.o.).

**Tabela 14.** Atividade hipoglicêmica de extratos de *Bauhinia unguolata* no teste de tolerância oral à glicose em ratos euglicêmicos

tempo (min)	Controle sem sobrecarga	Sobrecarga + veículo	Sobrecarga + EABU	Sobrecarga + EEBU	Sobrecarga + glibenclamida
0	68,80 ± 7,30a	102,40 ± 4,60b	117,60 ± 13,70	106,20 ± 10,30	85,40 ± 10,10a
30	82,00 ± 5,20a	145,60 ± 16,00b	116,40 ± 9,80a	101,90 ± 10,30a	86,00 ± 3,70a
60	60,90 ± 4,10a	193,50 ± 12,30b	145,30 ± 9,80a,b	117,30 ± 9,30a,b	84,80 ± 7,90a
90	73,40 ± 5,40a	179,60 ± 11,30b	136,50 ± 4,80a,b	104,60 ± 8,60a	90,20 ± 6,60a

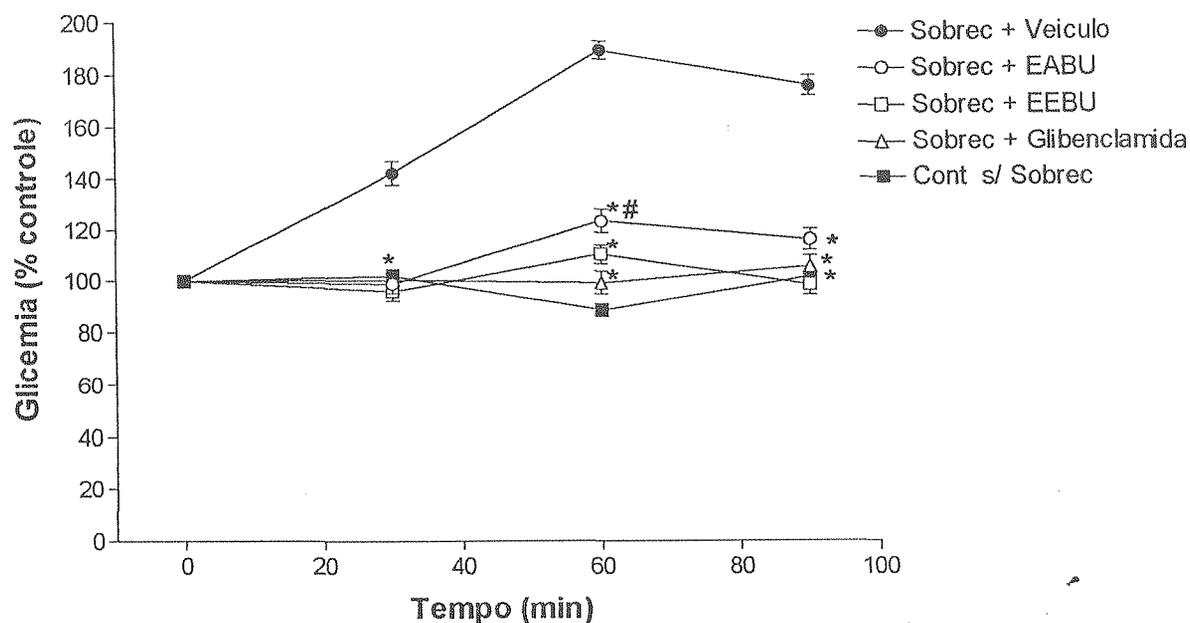
Os valores representam a média ± EPM (n=8 animais/grupo)

a.  $p < 0,05$  em relação ao grupo controle com sobrecarga

b.  $p < 0,05$  em relação ao grupo controle sem sobrecarga

(ANOVA e teste de Tukey)

EABU = Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*; EEBU = Extrato Etanólico de *Bauhinia unguolata*



**Figura 16.** Efeito protetor do EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*) e EEBU (Extrato Etanólico de *Bauhinia unguolata*) no teste de tolerância oral a glicose em ratos, quando administrados na dose de 400 mg/Kg por via oral 30 minutos antes da sobrecarga de glicose (n=8 animais/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \*  $p < 0,05$  ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Sobrecarga+Veículo. #  $p < 0,05$  ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Controle que não sofreu sobrecarga (cont s/ sobrec).

#### 4.8 Atividade do tratamento de 3 semanas com EABU (Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*), pinitol, *d*-quiro-inositol e insulina sob o peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos-STZ

A administração oral do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) diariamente durante três semanas em ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) corrigiu tanto a hiperglicemia como a dislipidemia observadas em animais controle. O decréscimo máximo na concentração de glicose do plasma induzida por EABU foi de  $44,7 \pm 5,3\%$  ( $392,1 \pm 31,7$  mg/dL vs.  $216,7 \pm 9,9$  mg/dL;  $p < 0,05$ ) comparada a  $2,1 \pm 0,3\%$  variação induzida por salina ( $387 \pm 21,7$  mg/dL vs.  $395,2 \pm 25,6$  mg/dL) ou  $77,8 \pm 13,2\%$  diminuição induzida através do tratamento com insulina ( $365,6 \pm 33,9$  mg/dL vs.  $81,0 \pm 3,6$  mg/dL). Por outro lado, EABU não induziu nenhuma alteração em ratos euglicêmicos tratados oralmente por *gavage* durante três-semanas ( $68,3 \pm 4,8$  versus  $74,3 \pm 6,1$  mg/dL) (Tabela 15 e Figura 17). Além disso, o EABU também induziu uma diminuição significativa ( $45,1 \pm 4,6\%$ ) na trigliceridemia de ratos-diabéticos com variação de valores controle de  $224,0 \pm 31$  mg/dL para  $123 \pm 11,3$  mg/dL ( $p < 0,005$ ) comparados aos valores obtidos em animais diabéticos tratados durante três-semanas com salina (de  $421 \pm 29,7$  mg/dL para  $378 \pm 18,0$  mg/dL) (Tabela 15).

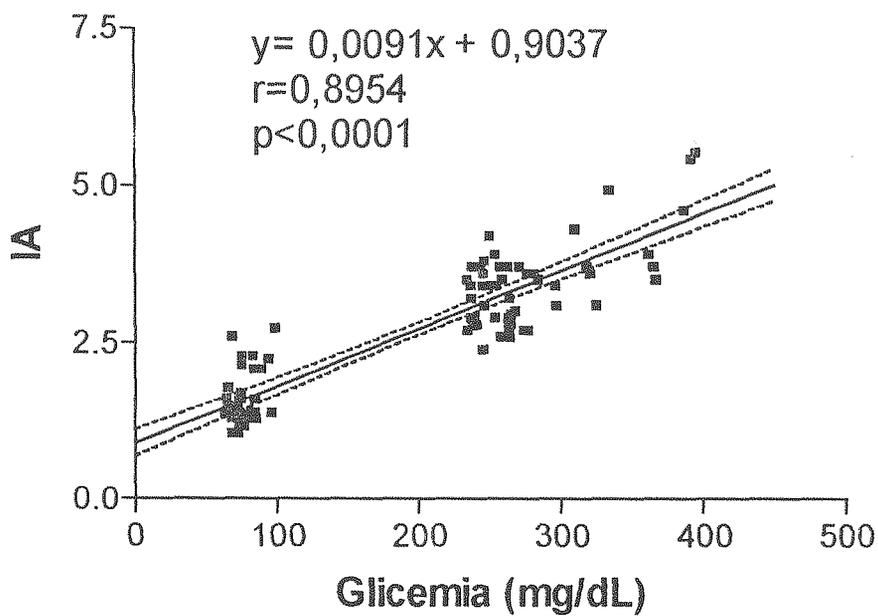
Por outro lado, o extrato etanólico de *B. unguolata* reduziu a glicemia de animais diabéticos em  $55,1 \pm 6,4$  % ( $276 \pm 23$  mg/dL para  $124 \pm 11$  mg/dL). A hipertrigliceridemia associada ao diabetes também foi reduzida por EEBU em  $88,9 \pm 7,3$  % ( $483 \pm 68,3$  mg/dL para  $53,7 \pm 9,1$  mg/mL) (Tabela 15).

**Tabela 15.** Efeito do tratamento oral de 3 semanas com extratos de *Bauhinia unguolata* e mediadores putativos da insulina no peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos-STZ, comparados com os da insulina

Grupo	n	Peso corporal (g)	Glicose (mg/dL)	TG (mg/dL)	COL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	I.A.
I- Euglicêmico	11	201±2,3	98,6±6,9	63±8,3	78,9± 5,8	21±1,9	45±4,6	12,6±1,6	2,74±0,3
I- Euglicêmico + Salina (3-semanas)	11	250±1,8*	94,1±7,6	82±12,0	91,1±12,7	28±2,5	46,7±8,6	16,4±2,5	2,26±0,08
II- Euglicêmico	7	226,5±8,4	68,3±4,8	68,2±2,8	86,4±2,4	26,1±0,2	44,3±6,9	16,0±3,7	2,31±0,1
II- Euglicêmico + EABU 400 (3-semanas)	7	254±4,6*	74,3±6,1	66,9±1,8	85,9±2,5	23,4±0,7	49,1±5,7	13,4±5,9	2,67±0,18
III- Euglicêmico	7	226,5±17	76,5±6,3	74±6,2	86,8±5,6	40±4,3	32±2,4	14,8±2,8	1,17±0,09
III- Euglicêmico + EEBU 400 (3-semanas)	7	274±15,6*	83,4±7,7	86±7,1	93,6±8,4	35,4±3,8	41±3,6	17,2±3,1	1,64±0,23
IV- Diabético	8	237±16	387±21,7	421±29,7	146,1±7,9	26,1±2,0	35,8±5,0	84,2±5,9	4,60±0,4
IV- Diabético + Salina (3-semanas)	8	191±13	395,2±25,6	378±18,0	133,6±8,3	20,5±1,7	37,5±2,6	75,6±2,2	5,52±0,3
V- Diabético	8	239±13,8	392,1±31,7	224±31	139±11,3	30,2±4,7	64±2,8	44,8±3,9	3,60±0,26
V- Diabético + EABU 400 (3-semanas)	8	221±8,7	216,7±9,9*	123±11,3*	86±7,6	40,4±4,2	21±1,9*	24,6±2,7	1,23±0,36*
VI- Diabético	8	243±18	276±23	483,0±68,3	143±5,3	17,2±2,3	29,6±4,3	66,6±4,8	5,42±0,36
VI- Diabético + EEBU 400 (3-semanas)	8	283±21	124±11*	53,7±9,1*	64,1±8,0*	22,4±1,9	31,0±1,8	10,74±5,3*	1,86±0,09*
VII- Diabético	7	221,4±12	334±15,2	240,7±54,3	106,8±4,4	18,0±3	40,7±3,4	48,1±2,6	4,93±0,25
VII- Diabético + Pinitol (3-semanas)	7	237±7	245±24*	121±28*	80,1±5,6	21,6±4,6	34,2±5,3	24,2±3,7*	2,7±0,18*
VIII- Diabético	9	223,4±17,3	367±18,6	254,6±53,6	109,1±6,7	28,5±1,9	49,7±7,2	50,9±10,7	3,50±0,09
VIII- Diabético + D-qui-ro inositol (3-semanas)	9	246±24	310±10,2*	123±12,1*	80,9±4,6*	26,2±1,4	30±3,3	24,6±2,4*	2,08±0,25*
IX- Diabético	8	236±12,9	365,6±33,9	208,3±35,0	106,3±4,6	22,6±2,8	42,0±3,0	41,7±3,1	3,70±0,31
IX- Diabético + Insulina (3-semanas)	8	281,6±13,0*	81,0±3,6*	135,2±37,8*	79,5±5,8*	23,4±2,1	29,1±12,1	27,0±3,9*	2,40±0,07*

Salina (1ml/kg/12h, v.o.); EABU (400mg/kg /12h, v.o.); EEBU (400mg/kg /12h, v.o.); pinitol (20mg/kg/12h, v.o.) e *d*-qui-ro inositol (20mg/kg/12h, v.o.); insulina (1 U/kg/24h, s.c.). Glicemia e perfil lipídico de ratos diabéticos-STZ \* p<0,05 versus diabético

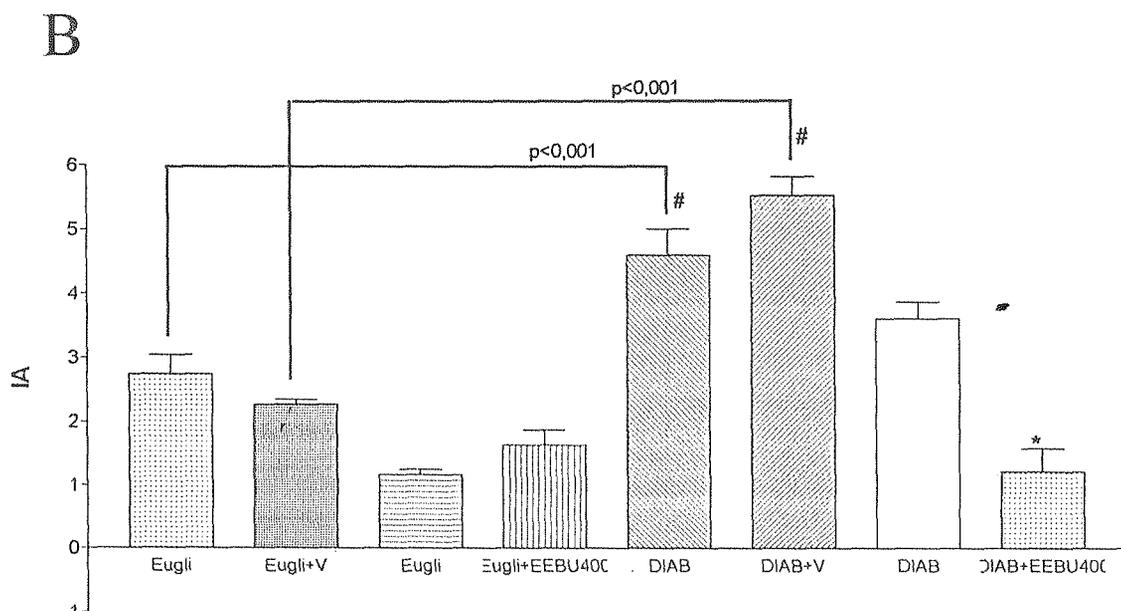
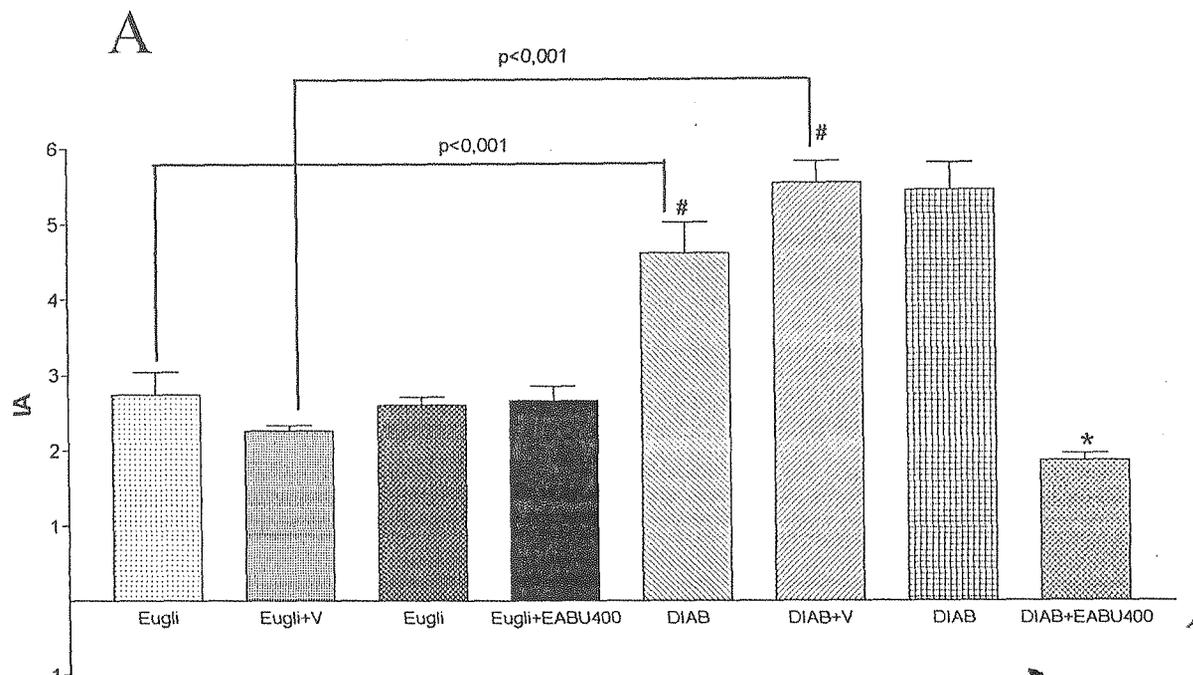
EABU = Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*; EEBU = Extrato Etanólico de *Bauhinia unguolata*; STZ = estreptozotocina; TG = Triglicéride; COL = Colesterol; HDL = Lipoproteína de Alta Densidade; LDL = Lipoproteína de Baixa Densidade, VLDL = Lipoproteínas de Baixíssima Densidade; IA = Índice Aterogênico



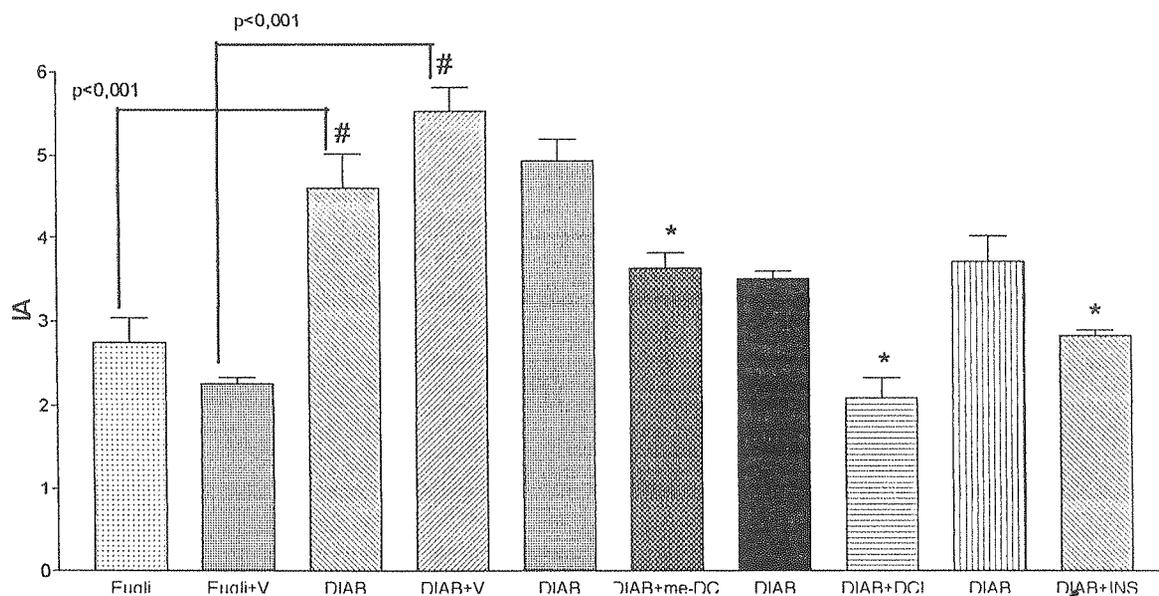
**Figura 17.** Correlação linear entre valores de concentração sérica de glicose e índice aterogênico de uma amostra populacional de ratos Wistar euglicêmicos (n=36) e de ratos diabéticos por estreptozotocina (n=56).

Os índices aterogênicos dos animais diabéticos foram significativamente maiores do que os obtidos em animais euglicêmicos de mesma idade e sexo. Uma correlação positiva significativa foi encontrada entre glicemia e índice aterogênico nos nossos animais experimentais (Figura 17) com coeficiente de Pearson calculado em 0,8954 ( $p < 0,001$ ). O índice aterogênico calculado para animais euglicêmicos tratados com salina foi de  $2,26 \pm 0,08$  comparado com  $5,52 \pm 0,9$  (incremento de  $144,25 \pm 12,7\%$ ),  $p < 0,001$ ) obtidos em animais diabéticos de mesma idade e sexo. Por outro lado, animais diabéticos tratados com EABU (400mg/Kg; vo) tiveram redução significativa do índice aterogênico ( $3,6 \pm 0,26$  vs.  $1,23 \pm 0,36$ ) (redução de  $65,8 \pm 4,2\%$ ,  $p < 0,001$ ) assim como aqueles tratados com EEBU (400mg/Kg) ( $5,42 \pm 0,4$  vs.  $1,86 \pm 0,09$ , redução de  $65,7 \pm 5,2\%$ ;  $p < 0,001$ ), Tabela 15, Figura 18 a e b.

De maneira similar, o tratamento dos animais com metil-D-quirositol (me-DCI) reduziu o índice aterogênico em  $45,2 \pm 3,7\%$  ( $4,93 \pm 0,25$  vs.  $2,7 \pm 0,18$ ;  $p < 0,001$ ), em  $40,6 \pm 3,4\%$  ( $3,5 \pm 0,09$  vs.  $2,08 \pm 0,25$ ) nos animais tratados com D-quirositol (DCI) e em  $35,1 \pm 2,6\%$  ( $3,7 \pm 0,31$  vs.  $2,4 \pm 0,07$ ;  $p < 0,001$ ) nos animais tratados com insulina (INS), Tabela 15, Figura 19 a e b.



**Figura 18.** Efeito do tratamento oral por três semanas através de gavagem oroesofágica com 400 mg/Kg de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU; painel A) ou extrato etanólico de *Bauhinia unguolata* (EEBU; painel B) no índice aterogênico de ratos diabéticos por estreptozotocina (DIAB) comparado com o efeito obtido em animais euglicêmicos. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p < 0,001$ , teste t de Student pareado vs. controle diabético anterior ao tratamento. v = veículo; eugli = euglicêmico. #  $p < 0,001$  teste t de Student não pareado vs. animais euglicêmicos controles.



**Figura 19.** Efeito do tratamento oral por três semanas através de gavagem oro-esofágica com 20 mg/Kg de D-quiró inositol (DCI) ou metil-D-quiró inositol (me-DCI) no índice aterogênico de ratos diabéticos por estreptozotocina (DIAB) comparado com o efeito obtido em animais euglicêmicos. Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p<0,001$ , teste t de Student pareado vs. controle diabético anterior ao tratamento. V=veículo; eugli=euglicêmico. #  $p<0,001$ .

#### 4.9 Atividade hipolipemiante do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) em camundongos tratados com Tiloxapol

Amostras de sangue foram coletadas do plexo retroorbital 24 e 48 horas e processados para dosagem de triglicérides (TG) e colesterol total (COL) e fracionado utilizando-se *Kits* labtest com método de leitura espectofotométrica.

Os animais tratados com salina tinham concentrações séricas de triglicérides (TG); nas 24 horas após indução da dislipidemia, de  $60 \pm 6,7$  mg/dL e  $2730,0 \pm 273,7$  mg/dL, naqueles tratados com tiloxapol,  $253,9 \pm 73,3$  nos tratados com EABU (400 mg/dL;  $p < 0,001$  vs. tratados com tiloxapol) (Figura 20a).

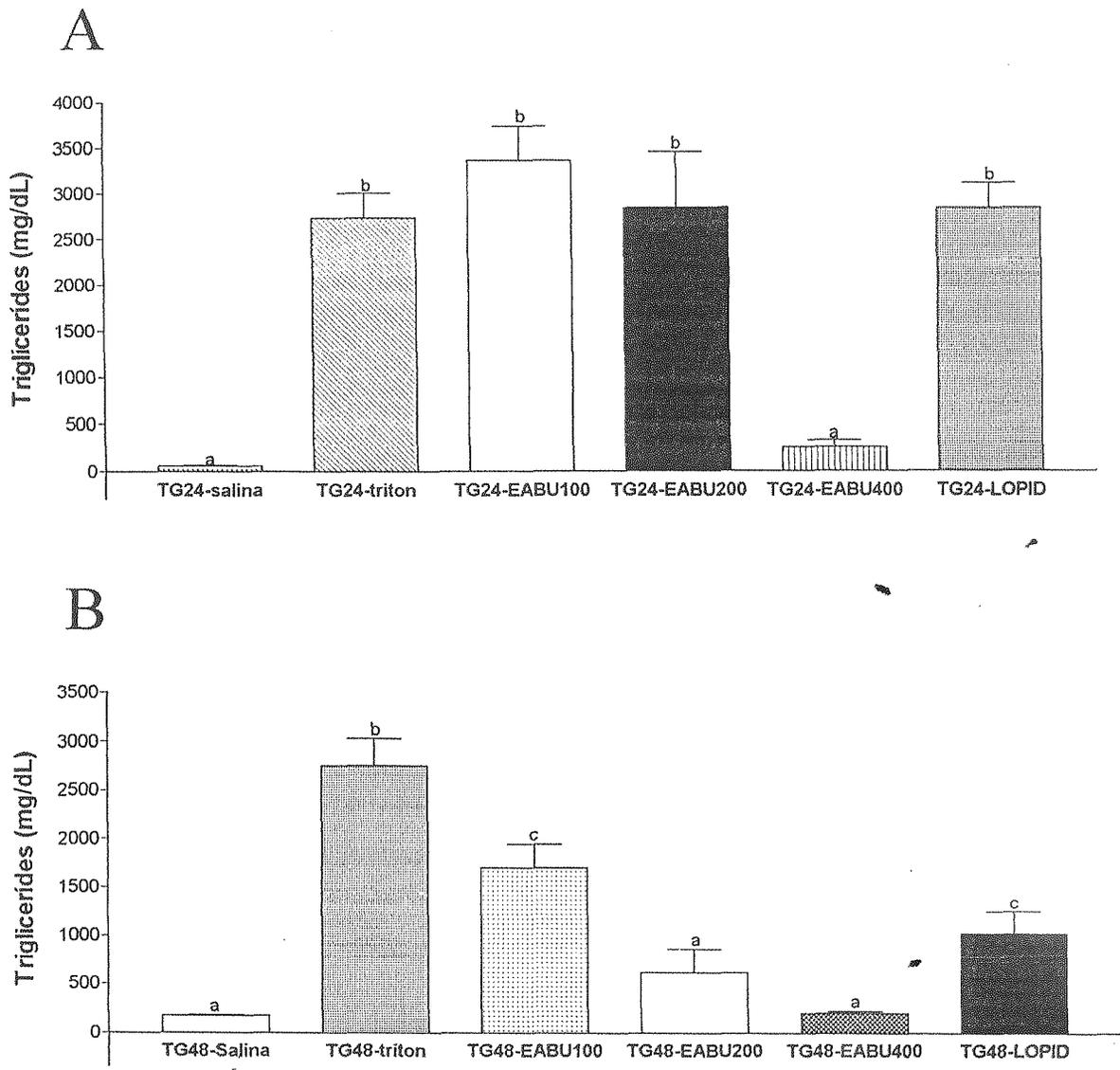
A hipercolesterolemia induzida pelo tiloxapol também foi revertida pelo EABU (400 mg/Kg) a partir de  $473 \pm 19,1$  mg/dL para  $143,3 \pm 10,4$  mg/dL ( $p < 0,01$ ) com níveis comparados aqueles dos animais tratados com salina ( $122,3 \pm 9,8$  mg/dL) (Figura 21a).

As demais doses e drogas não alteram a dislipidemia induzida pelo tiloxapol nas primeiras 24 hs, (Figuras 20a e 21a).

Os níveis de triglicérides (TG) das 48 h no grupo tiloxapol era de  $2745 \pm 280,8$  mg/dL e de  $203,3 \pm 17,3$  nos tratados com EABU na dose de 400 mg/Kg ( $p < 0,001$ ), (Figura 20b).

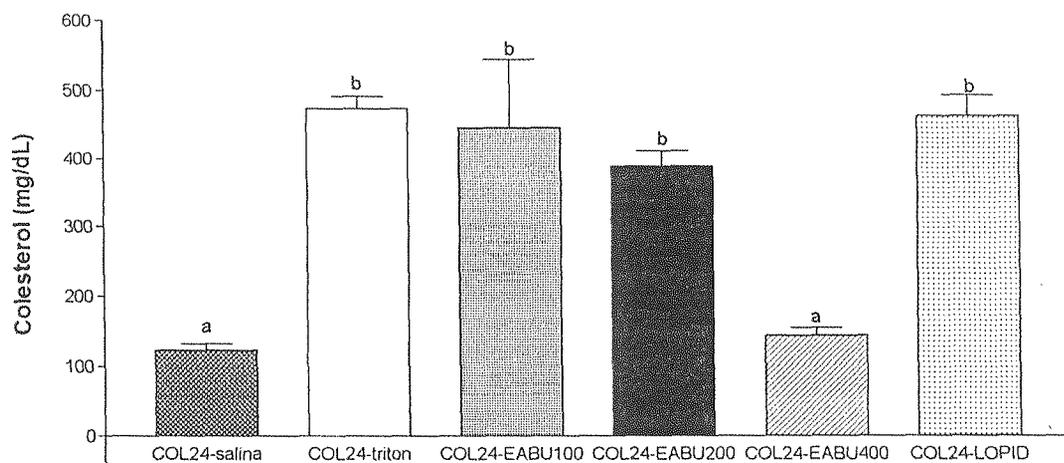
Nos animais tratados com gemfibrozil (Lopid<sup>®</sup>) a concentração de triglicérides (TG) foi de  $1013 \pm 231,5$  mg/dL (Figura 20b).

O colesterol sérico no grupo tiloxapol foi de  $459,4 \pm 30,3$  comparado com  $145,1 \pm 8,6$  (EABU 400 mg/Kg;  $p < 0,005$ ) e de  $255 \pm 29,7$  nos animais tratados com gemfibrozil (Lopid<sup>®</sup>), (Figura 21b).

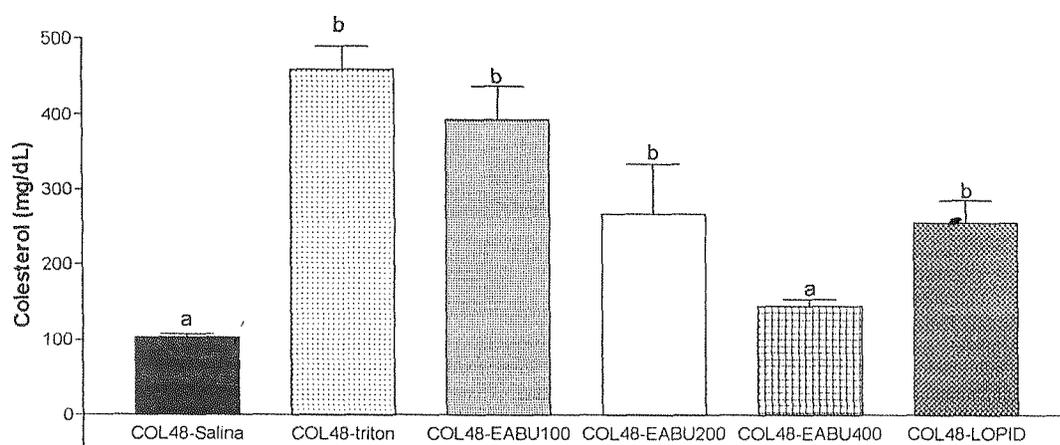


**Figura 20.** Em (A) observa-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipertrigliceridemia induzida por tiloxapol (400 mg/Kg) após 24 horas da indução. No painel (B) verifica-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipertrigliceridemia induzida por tiloxapol (Triton; 400 mg/Kg) após 48 horas da indução, (n=10/grupo). Letras diferentes correspondem a diferença estatística com significância de 5%, teste t de Student pareado.

A



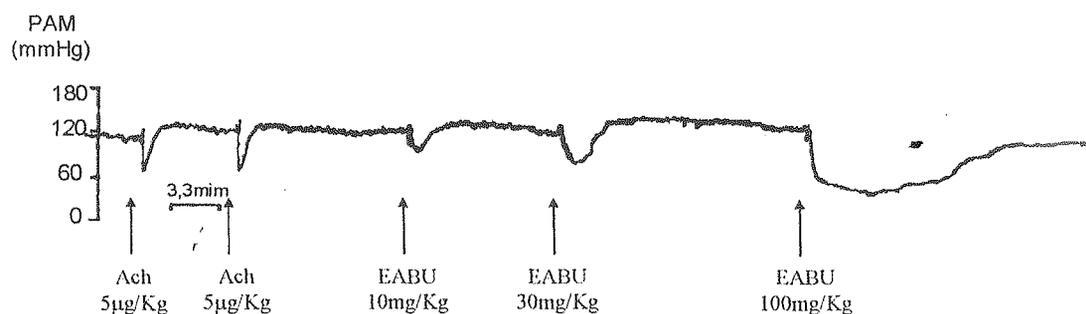
B



**Figura 21.** Em (A) verifica-se o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na hipercolesterolemia induzida por tiloxapol (400 mg/Kg) após 24 horas da indução. Em (B) observa-se o efeito do EABU na hipercolesterolemia induzida por tiloxapol (Triton); 400 mg/Kg após 48 horas da indução, (n=10/grupo). Letras diferentes correspondem a diferença estatística com significância de 5%, teste t de Student pareado.

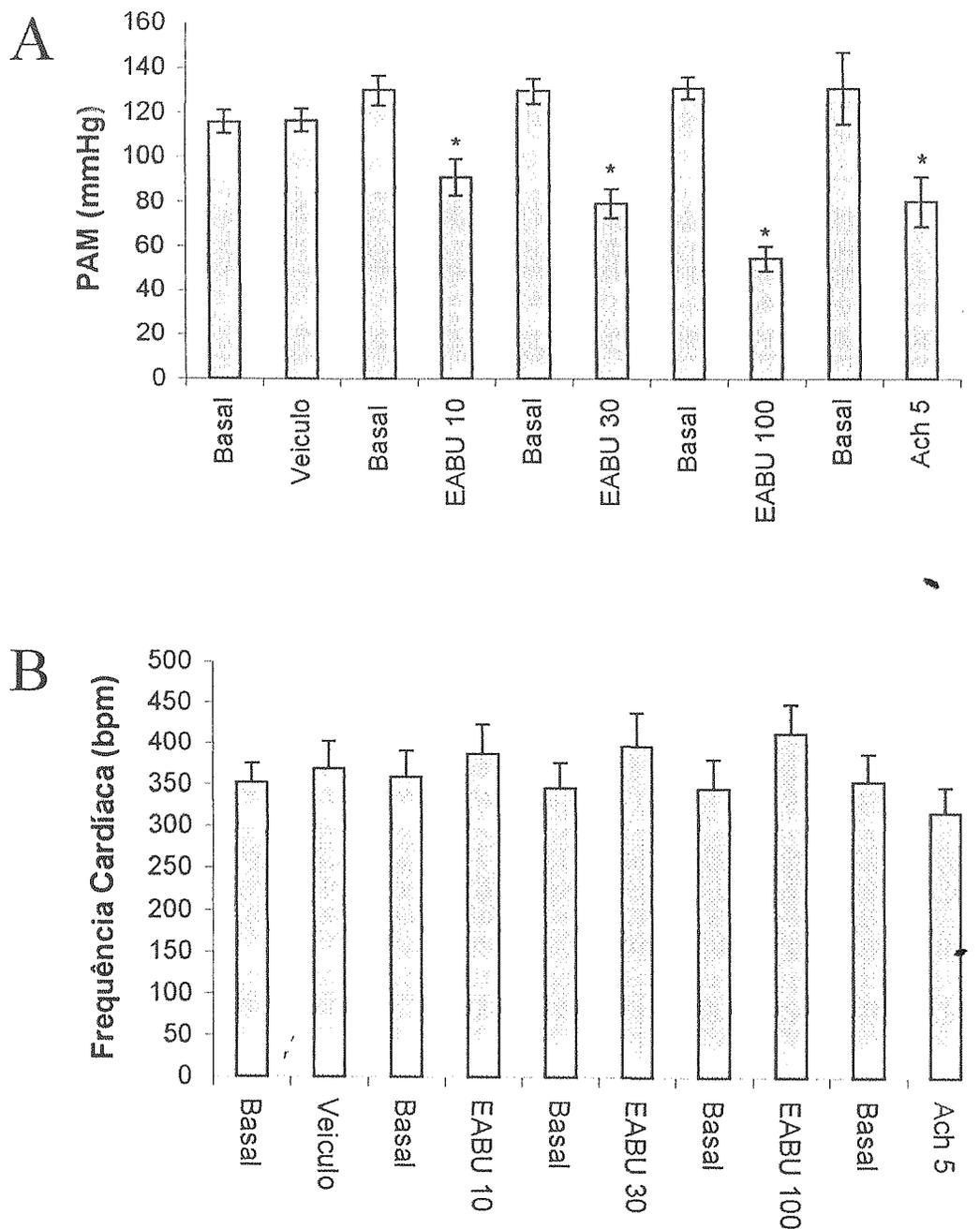
#### 4.10 Efeito do EABU na pressão arterial média (PAM) de ratos normotensos

Após a injeção em *bolus* do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) nas doses de 10 e 30 mg/Kg, o mesmo induziu efeito hipotensor de curta duração (<2 minutos), na dose 100 mg/Kg. O efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) teve duração prolongada com média de  $39,2 \pm 10,1$  minutos, obtendo-se uma recuperação de  $115,7 \pm 5,2$  mmHg, correspondendo em valor percentual a  $88,8 \pm 3,3\%$  em relação à pressão basal inicial ( $130,7 \pm 5,1$  mmHg), ( $n=6$ /grupo), (Figura 22).

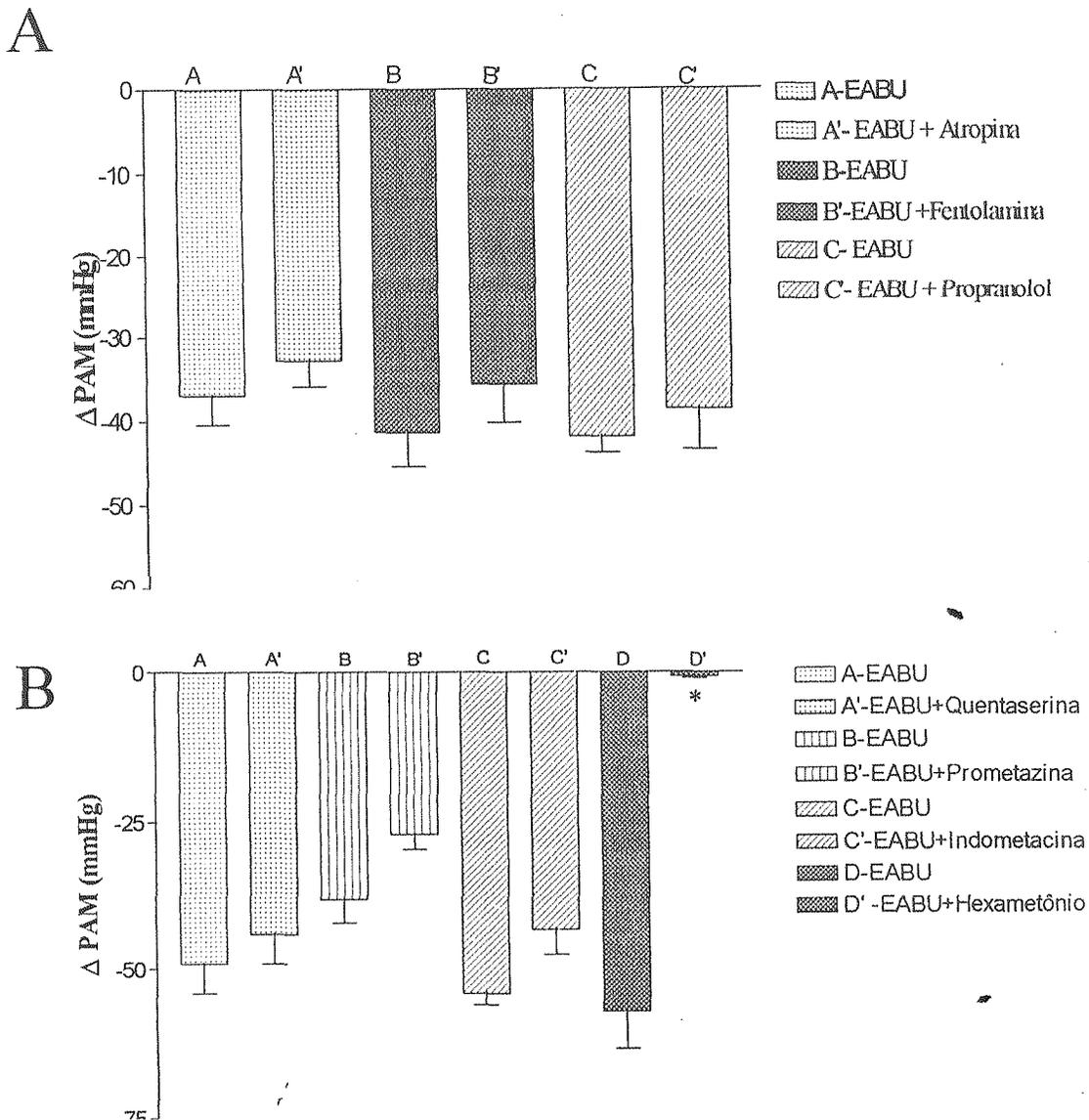


**Figura 22.** O espectro mostra um traçado de polígrafo representando o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na pressão arterial média (PAM), usando-se acetilcolina (ACh) ( $5 \mu\text{g}/\text{Kg}$ ) como controle. As setas indicam o local do registro que marca o ponto de aplicação da ACh ( $\mu\text{g}/\text{Kg}$ ) e do EABU ( $\text{mg}/\text{Kg}$ ). O traçado é representativo de 6 experimentos.

As injeções do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (10, 30 e 100 mg/Kg), induziram uma queda dose-dependente na pressão arterial média (PAM) (mmHg) da ordem de  $29,8 \pm 2,9\%$  ( $129,9 \pm 6,7$  mmHg para  $91 \pm 8,1$  mmHg,  $p < 0,05$ ; n: 6),  $39,0 \pm 2,6\%$  ( $129,3 \pm 5,7$  mmHg para  $79 \pm 6,7$  mmHg;  $p < 0,001$ ; n:6) e  $58,5 \pm 3,6\%$  ( $130,7 \pm 5,1$  mmHg para  $54,3 \pm 5,4$  mmHg;  $p < 0,001$ ; n:6), respectivamente (Figura 23a). Este efeito hipotensor não foi acompanhado de mudança significativa na frequência cardíaca dos animais. A frequência cardíaca variou, após as injeções de EABU (10, 30 e 100 mg/Kg) de um valor controle de  $358,3 \pm 32,5$  bpm para  $387 \pm 36,5$  bpm,  $396,5 \pm 41,3$  bpm e  $412 \pm 35,2$  bpm, respectivamente, (Figura 23b).

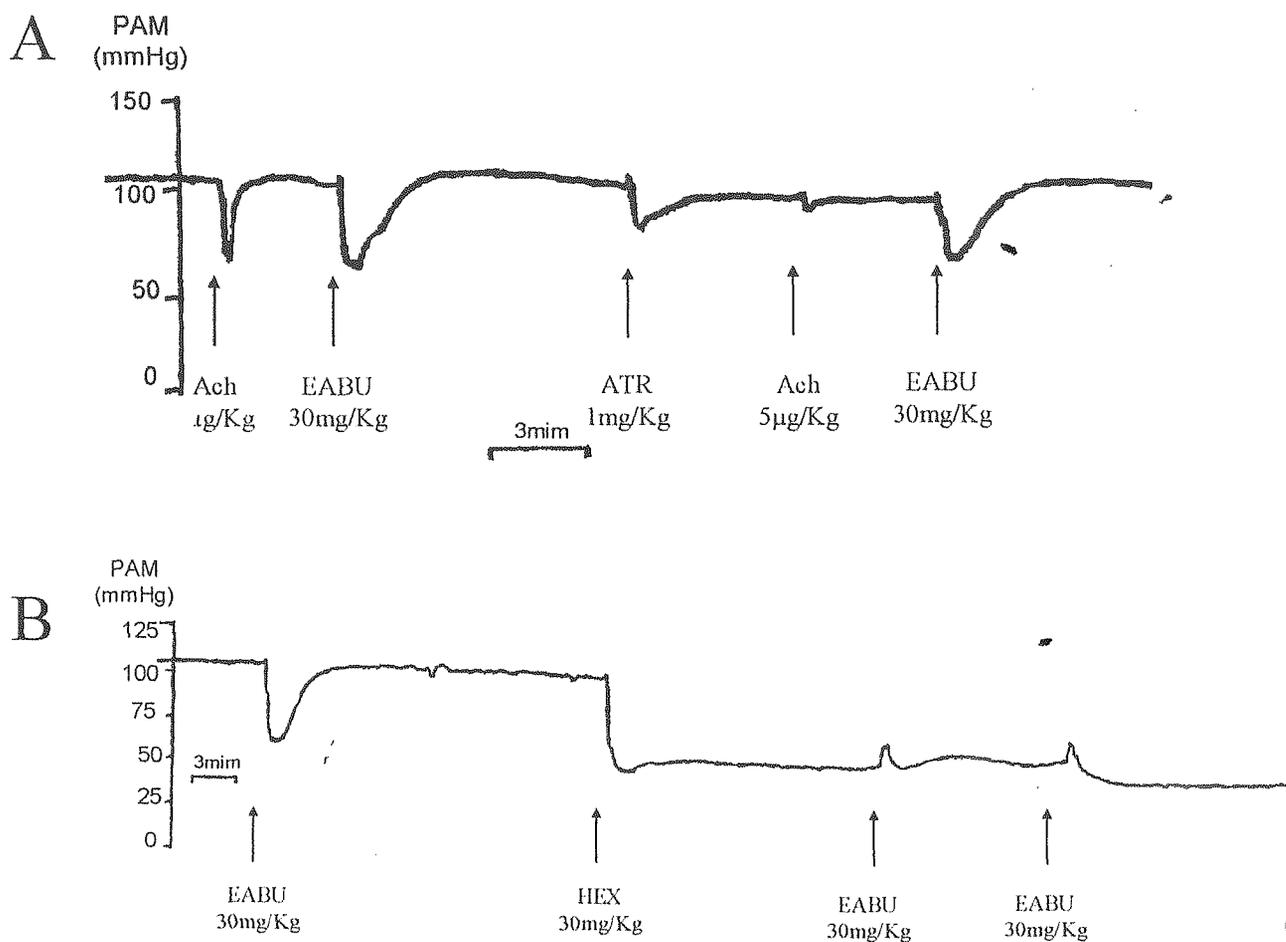


**Figura 23.** O painel (A) mostra o efeito de extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) e da acetilcolina (ACh) na pressão arterial média (PAM) em animais normotensos após infusão intravenosa em *bolus* nas doses de 10, 30 e 100 mg/Kg. Em (B) é mostrado a ausência de efeito deste extrato na frequência cardíaca *in vivo*. Os dados são mostrados como média  $\pm$  erro padrão da média \* $p < 0,05$ , teste t de Student pareado vs. basal imediatamente anterior ( $n=6$ /grupo).



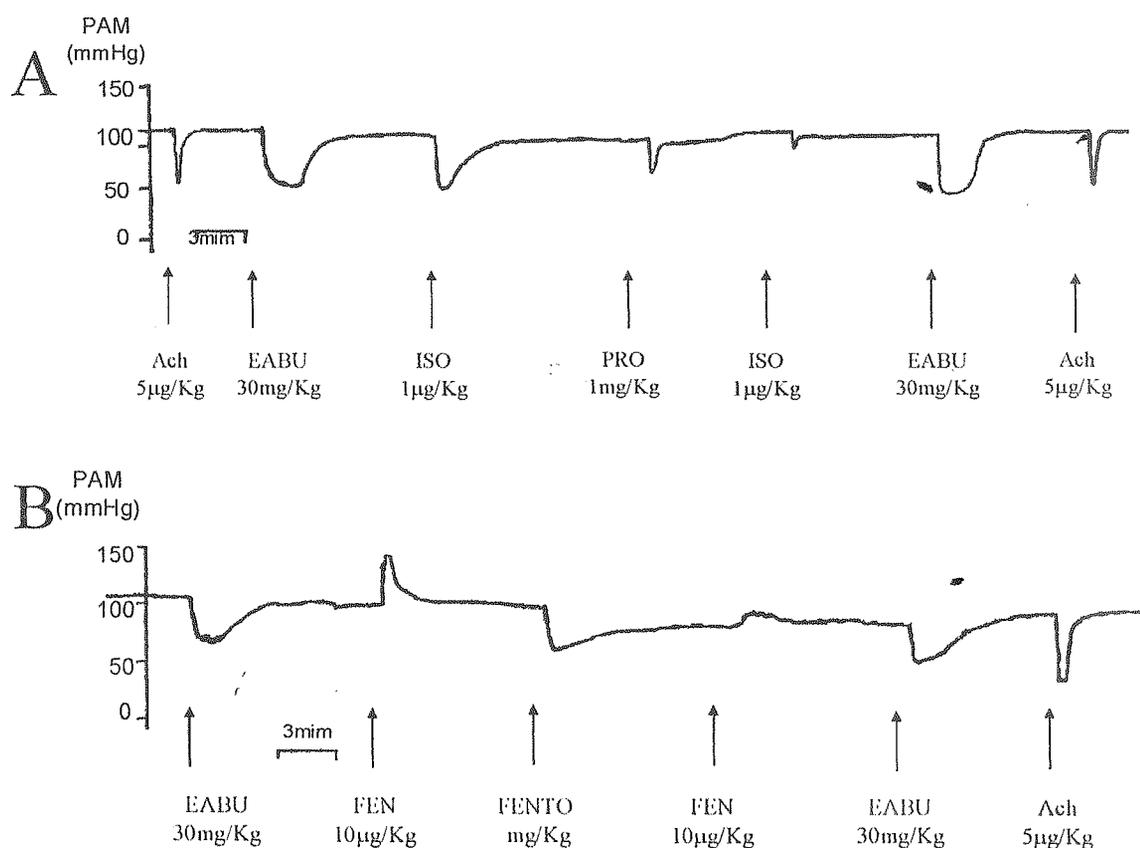
**Figura 24.** O gráfico (A) mostra o efeito de bloqueadores de receptores muscarínicos e adrenérgicos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU). As drogas atropina (ATR 1 mg/kg), fentolamina (0,1 mg/kg) e propranolol (2 mg/kg) foram injetados 20 minutos antes da administração de EABU e comparadas com o efeito obtido antes da injeção das drogas. Em (B) na ausência de efeito de bloqueadores inespecíficos de receptor da serotonina (quentaserina; KEN; 20 mg/kg), bloqueador histaminérgico (prometazina; PROM; 1 mg/kg), bloqueador da síntese de prostanoide (indometacina; INDO; 40 mg/kg) e do bloqueador ganglionar (hexametônio; HEX; 5 mg/kg) na resposta hipotensora induzida pelo EABU. As drogas foram injetadas 20 minutos antes da administração de EABU e comparadas com o efeito obtido antes da injeção das drogas. Os dados são expressos com média  $\pm$  erro padrão ( $n = 6$ /grupo). \* $p < 0,05$  vs. hipotensão induzida pelo EABU antes da injeção da droga. PAM = pressão arterial média.

O efeito hipotensor induzido por injeção em *bolus* do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30mg/Kg) não foi alterado em ratos atropinizados (1mg/Kg). A variação percentual da pressão arterial após administração de EABU foi de  $37,0 \pm 3,4\%$  e  $32,8 \pm 3,1$  após atropinização ( $p > 0,005$ ; (Figuras 24a e 25a).



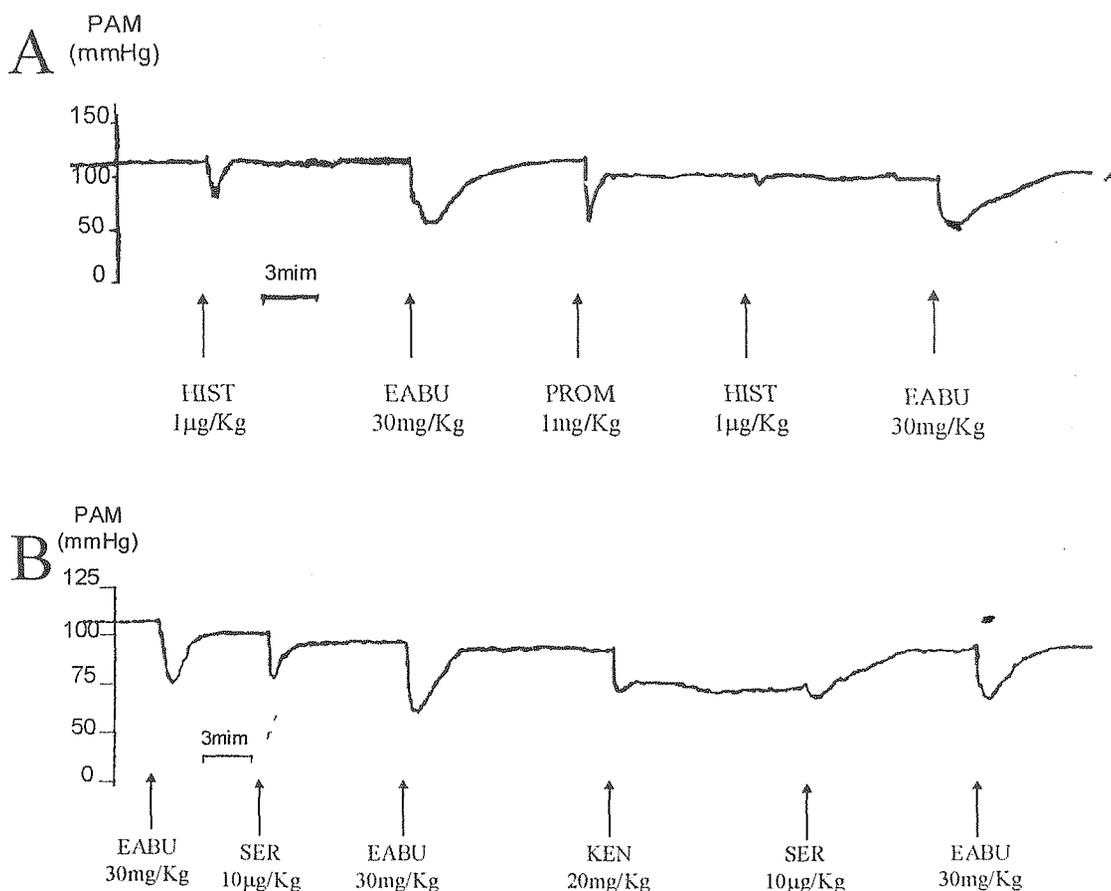
**Figura 25.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a atropina (ATR; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para o hexametônio (HEX; 30 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos. PAM = pressão arterial média.

De maneira similar, o pré-tratamento com fentolamina não afetou a hipotensão induzida pelo extrato aquoso de *Bauhinia unguulata* (EABU). A variação percentual da pressão arterial média (PAM) na ausência de fentolamina foi de  $41,3 \pm 4,0\%$  e de  $35,6 \pm 4,5\%$  na presença de fentolamina (0,1mg/Kg), (Figuras 24a e 26b).



**Figura 26.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para o propranolol (PRO; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para a fentolamina (FEN; 0,1 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguulata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos. PAM = pressão arterial média.

A administração de quentaserina também não alterou significativamente o efeito hipotensor induzido pelo extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) sendo a variação percentual da pressão arterial média (PAM) antes do pré-tratamento de  $49,5 \pm 5,0$  e após administração com quentaserina de  $44 \pm 9,8$  (Figuras 24b e 27b).



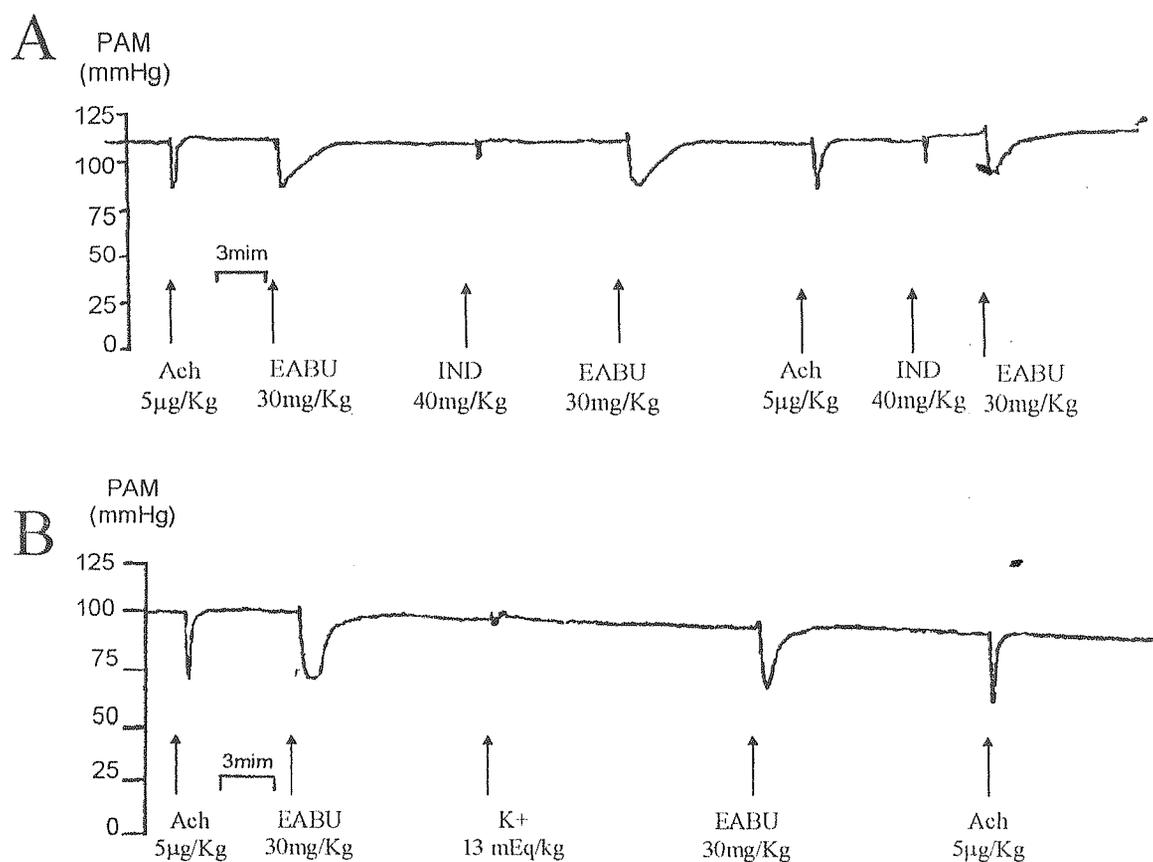
**Figura 27.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a prometazina (PROM; 1 mg/kg) e em (B) um traçado para a quentaserina (KEN; 20 mg/kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos. PAM = pressão arterial média.

Similarmente, a administração de propranolol não afetou a resposta hipotensora evocada pelo extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) com variações percentuais de  $41,8 \pm 3,9\%$  antes e de  $38,5 \pm 4,8\%$  após administração de propranolol (Figuras 24a e 26a).

O bloqueio de receptores  $H_1$  histaminérgicos com prometazina não alterou a resposta hipotensora ao EABU com variações percentuais da pressão arterial de  $38,0 \pm 4,0\%$  antes e de  $27 \pm 2,5\%$  após pré-tratamento com prometazina (Figuras 24b e 27a).

O bloqueio ganglionar com hexametônio e conseqüentemente bloqueio da resistência periférica, diminui significativamente a resposta hipotensora ao EABU com a variação percentual da pressão induzida por EABU antes da administração de hexametônio (30mg/Kg) de  $57,1 \pm 6,7\%$  e de  $0,7 \pm 0,3\%$  ( $p < 0,001$ ) após o pré-tratamento com hexametônio, (Figuras 24b e 25b).

Para afastar a possibilidade de um efeito indireto via liberação de prostaglandinas, o efeito da mesma dose do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU); i.e., 30mg/Kg, foi testado antes e após administração de indometacina (40mg/kg). A variação da pressão arterial não foi diferente após pré-tratamento com indometacina ( $54,0 \pm 1,9$  vs  $43,1 \pm 4,3$ ) (Figuras 24b e 28a).



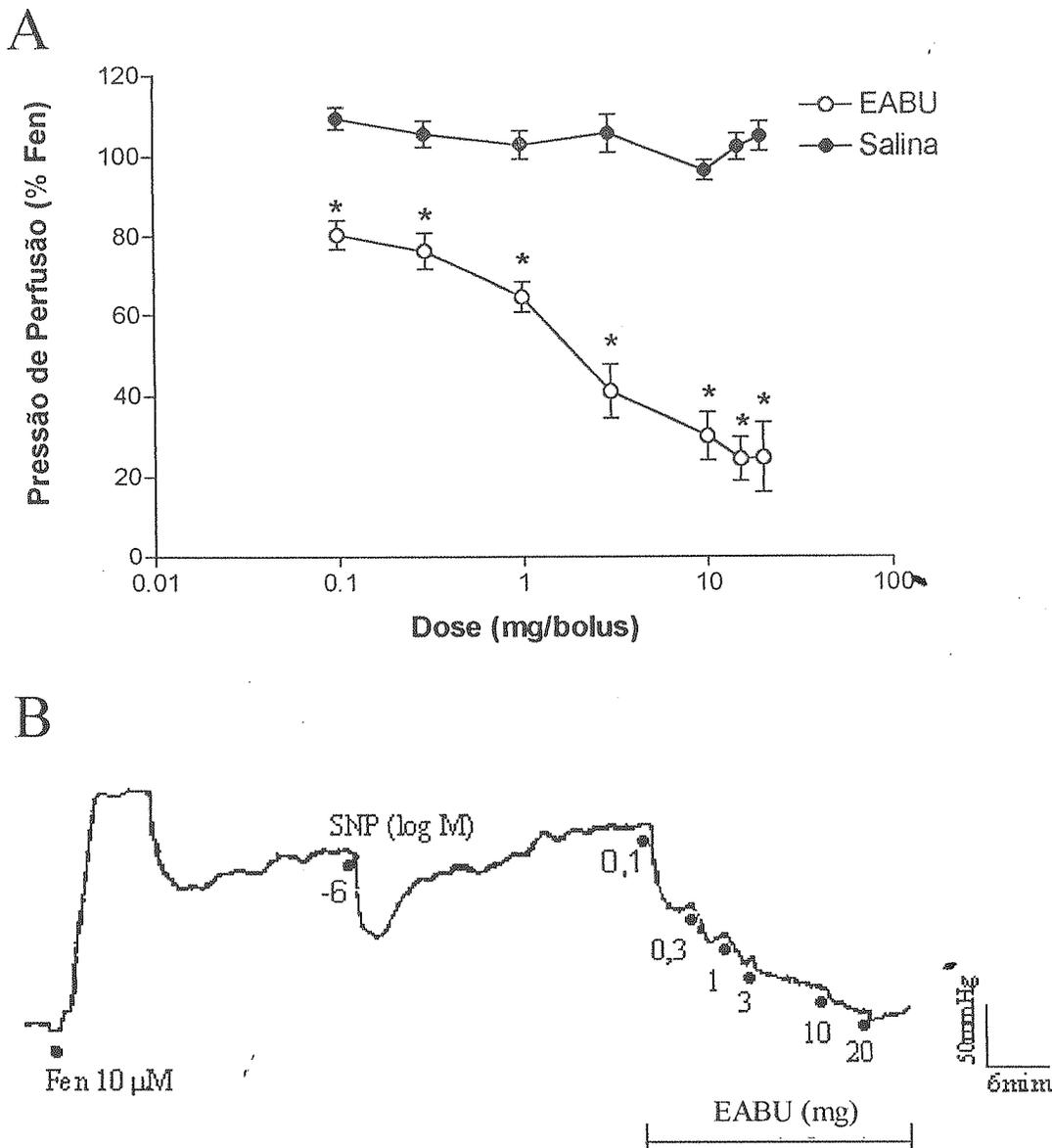
**Figura 28.** Os traçados (A) e (B) representam os registros obtidos de um polígrafo. Em (A) observa-se um traçado para a indometacina (IND; 40 mg/kg) e em (B) um traçado para o potássio (K<sup>+</sup>; 13 mEq/Kg), ambos na resposta hipotensora do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (30 mg/kg) em animais normotensos. As setas indicam o momento de cada injeção das substâncias e as respectivas concentrações. Cada traçado (A) e (B) é representativo de 6 experimentos. PAM = pressão arterial média.

Neste mesmo sentido, foi testada a hipótese de um efeito inespecífico associado à alta concentração de potássio nas folhas (13 mEq/L). A administração de uma solução (pH 7,4; 37°C) de cloreto de potássio (13mEq/L) no volume correspondente a 1mL/Kg de peso de rato não alterou a pressão arterial. O EABU provocou queda da ordem de  $48,4 \pm 4,4\%$  e a injeção da solução de cloreto de potássio produziu um pequena resposta hipotensora de  $3,4 \pm 1,2\%$ , (Figura 28b).

#### 4.11 Estudo da atividade vasodilatadora do EABU

Para verificar uma possível atividade vasodilatadora direta o efeito da administração do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) foi testado em um leito vascular de resistência, o leito arteriolar mesentérico.

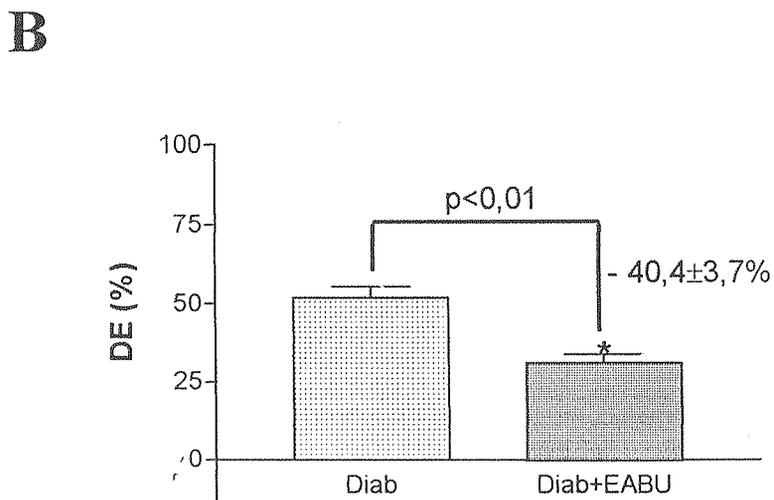
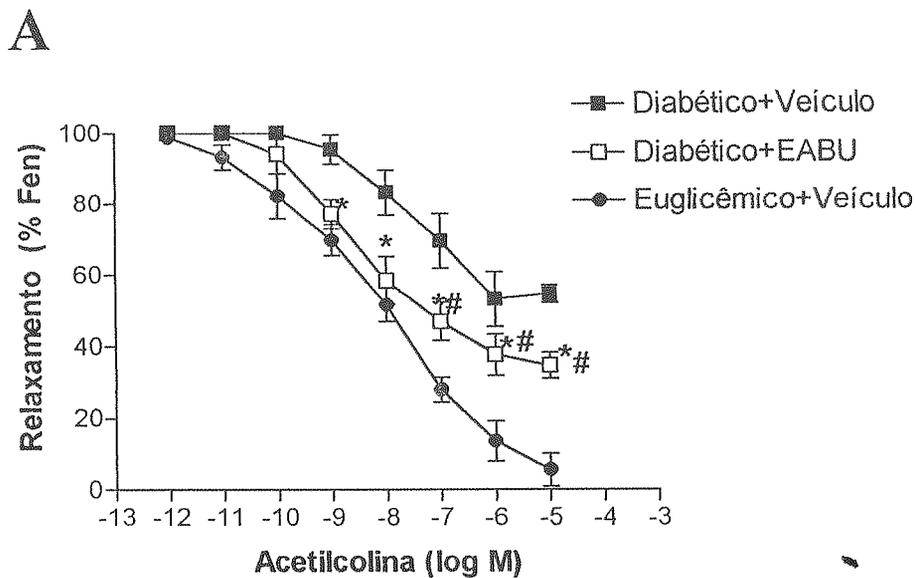
A injeção de EABU em *bolus* nas concentrações de 0,1 a 20 mg/mL provocam um efeito vasodilatador dose-dependente com resposta máxima de  $75,1 \pm 8,6\%$  de concentração de fenilefrina com  $CE_{50}$  calculado em 1,82 [1,32 – 2,52] mg, (Figura 29 a e b). As variações da pressão de perfusão após injeção de EABU (0,1, 1 e 10 mg/bolus) foram de  $-19,6 \pm 3,6\%$  ( $p < 0,01$ ); comparado com a resposta obtida por injeção isovolumétrica de salina:  $-35,3 \pm 3,7\%$  ( $p < 0,01$ ) e  $-69 \pm 5,9\%$  ( $p < 0,01$ )  
Figura 29a.



**Figura 29.** Em (A) é mostrado o efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) no leito arteriolar mesentérico (leito de resistência) quando infundido em *bolus* em doses variando de 0,1 a 20 mg. Os efeitos são comparados com aqueles obtidos após injeção isovolumétrica de salina. Os dados são mostrados como média  $\pm$  erro padrão da média ( $n=7$ /grupo). \* $p<0,05$ , análise de variância seguida de teste de Tukey. No painel (B) é mostrado um traçado poligráfico representativo do efeito do EABU na resistência vascular do leito mesentérico perfundido a fluxo constante. Fen = Fenilefrina, SNP = Nitroprussiato de sódio

#### 4.12 Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na disfunção endotelial de ratos diabéticos por estreptozotocina

O relaxamento de natureza endotelial induzido pela acetilcolina na aorta de rato diabético pela estreptozotocina foi muito prejudicado quando comparado com aquele obtido em animais controles euglicêmicos de mesma idade e sexo. O relaxamento máximo induzido por acetilcolina (Ach) foi  $94,4 \pm 4,6\%$  (PD<sub>2</sub> 7.9 [8.3-7.6]) em tecidos obtidos de ratos euglicêmicos e  $45,4 \pm 2,5\%$  (PD<sub>2</sub> 8.5 [8.8-8.2]) (PD<sub>2</sub> = cologaritmo da CE<sub>50</sub> definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima.) definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima em aortas de ratos diabéticos tratados com salina ( $p < 0,05$ ). O vasorelaxamento endotélio-dependente máximo induzido por acetilcolina na aorta de ratos diabéticos pré-tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) foi de  $65,4 \pm 3,6\%$  ( $p < 0,05$  versus diabético tratado com salina), ( $n=7$ /grupo), (Figura 30 a e b).



**Figura 30.** Curva dose-resposta à acetilcolina em anéis de aorta de rato com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina (A) e em (B) é mostrado a disfunção endotelial nos animais diabéticos e a prevenção da mesma nos animais tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), (n=7/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* $p < 0,05$  versus diabético + EABU e #  $p < 0,05$  versus diabético. DE = Disfunção endotelial, Fen = fenilefrina, Diab = diabético.

Semelhantemente, o relaxamento endotélio-dependente induzida por acetilcolina no leito vascular mesentérico melhorou após pré-tratamento dos ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) [400 mg/Kg; v.o; durante 3 semanas, (n=7/grupo)]. A resposta máxima de diminuição da pressão de perfusão obtida em tecidos de ratos diabéticos tratados com EABU foi de  $67,6 \pm 3,4\%$  ( $PD_2$  6.4 [6.9-5.8]) comparado com  $41,3 \pm 4,6\%$  ( $PD_2$  6.5 [7.3-5.7]) ( $PD_2$  = cologaritmo da  $CE_{50}$  definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima) obtidos em ratos diabéticos por estreptozotocina tratados com salina ( $p < 0.05$ ) e  $93,5 \pm 2,3\%$  ( $PD_2$  6.0 [6.2-5.9]) em ratos euglicêmicos (Tabela 16, Figura 31 a e b).

**Tabela 16.** Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na disfunção endotelial de ratos diabéticos por estreptozotocina, (n=7/grupo)

Grupo	Tecido	Agonista	Rmáx	PD <sub>2</sub>
Euglicêmico	aorta	Ach	94,4 ± 4,6	7,9 [8,3 – 7,6]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,9 [6,1 – 5,6]
Diabético	aorta	Ach	45,4 ± 2,5	8,5 [8,8 – 8,2]
		SNP	100,0 ± 0,0	6,6 [6,9 – 6,4]
Diabético + EABU	aorta	Ach	65,4 ± 3,6	8,0 [8,3 – 7,6]
		SNP	100,0 ± 0,0	7,0 [7,3 – 6,7]
Euglicêmico	LVM	Ach	93,5 ± 2,3	6 [6,2 – 5,9]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,6 [5,9 – 5,3]
Diabético	LVM	Ach	41,3 ± 4,6	6,5 [7,5 – 5,7]
		SNP	97,7 ± 0,6	5,7 [5,9 – 5,4]
Diabético + EABU	LVM	Ach	67,6 ± 3,4	6,4 [6,9 – 5,8]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,7 [6,7 – 5,8]

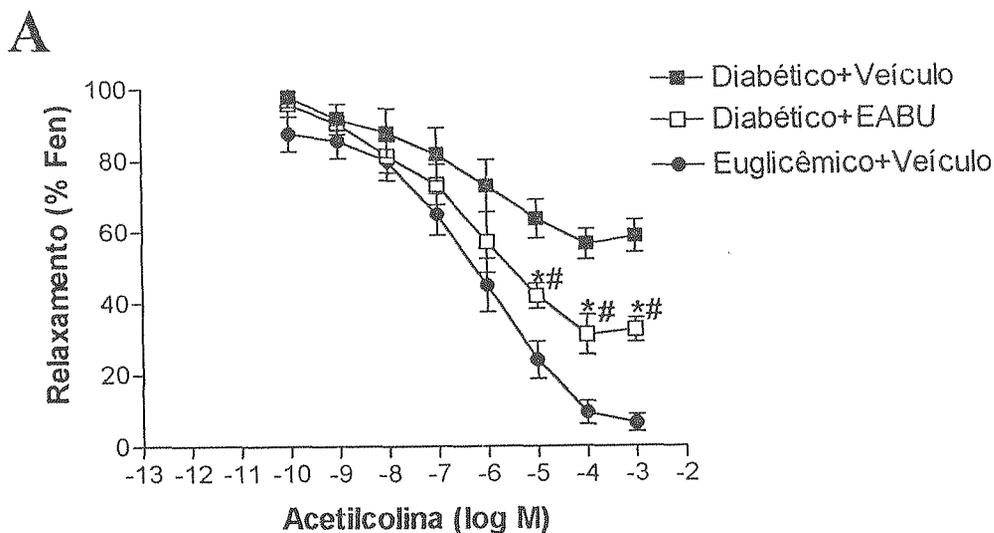
EABU = Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*, LVM = Leito vascular mesentérico, SNP = Nitroprussiato de sódio, Ach = Acetilcolina, Rmáx = resposta máxima, PD<sub>2</sub> = cologaritmo da  $CE_{50}$  definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima.

Semelhantemente, o relaxamento endotélio-dependente induzida por acetilcolina no leito vascular mesentérico melhorou após pré-tratamento dos ratos diabéticos por estreptozotocina (STZ) com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) [400 mg/Kg; v.o; durante 3 semanas, (n=7/grupo)]. A resposta máxima de diminuição da pressão de perfusão obtida em tecidos de ratos diabéticos tratados com EABU foi de  $67,6 \pm 3,4\%$  ( $PD_2$  6.4 [6.9-5.8]) comparado com  $41,3 \pm 4,6\%$  ( $PD_2$  6.5 [7.3-5.7]) ( $PD_2$  = cologaritmo da  $CE_{50}$  definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima) obtidos em ratos diabéticos por estreptozotocina tratados com salina ( $p < 0.05$ ) e  $93,5 \pm 2,3\%$  ( $PD_2$  6.0 [6.2-5.9]) em ratos euglicêmicos (Tabela 16, Figura 31 a e b).

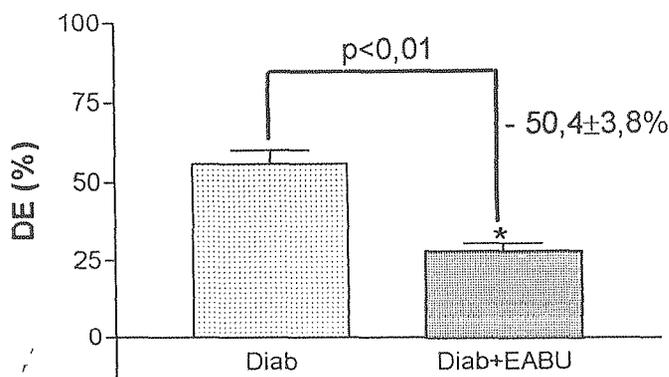
**Tabela 16.** Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na disfunção endotelial de ratos diabéticos por estreptozotocina, (n=7/grupo)

Grupo	Tecido	Agonista	Rmáx	PD <sub>2</sub>
Euglicêmico	aorta	Ach	94,4 ± 4,6	7,9 [8,3 – 7,6]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,9 [6,1 – 5,6]
Diabético	aorta	Ach	45,4 ± 2,5	8,5 [8,8 – 8,2]
		SNP	100,0 ± 0,0	6,6 [6,9 – 6,4]
Diabético + EABU	aorta	Ach	65,4 ± 3,6	8,0 [8,3 – 7,6]
		SNP	100,0 ± 0,0	7,0 [7,3 – 6,7]
Euglicêmico	LVM	Ach	93,5 ± 2,3	6 [6,2 – 5,9]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,6 [5,9 – 5,3]
Diabético	LVM	Ach	41,3 ± 4,6	6,5 [7,5 – 5,7]
		SNP	97,7 ± 0,6	5,7 [5,9 – 5,4]
Diabético + EABU	LVM	Ach	67,6 ± 3,4	6,4 [6,9 – 5,8]
		SNP	100,0 ± 0,0	5,7 [6,7 – 5,8]

EABU = Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*, LVM = Leito vascular mesentérico, SNP = Nitroprussiato de sódio, Ach = Acetilcolina, Rmáx = resposta máxima, PD<sub>2</sub> = cologaritmo da  $CE_{50}$  definido como concentração necessária para induzir 50% da resposta máxima.

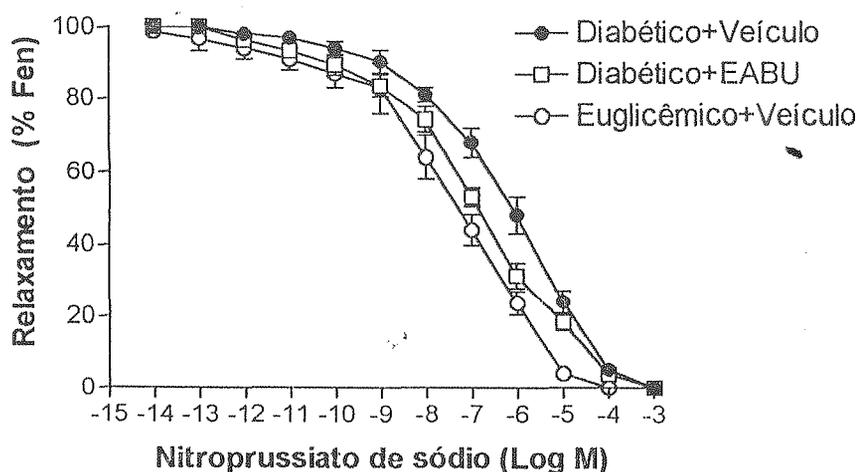


**B**



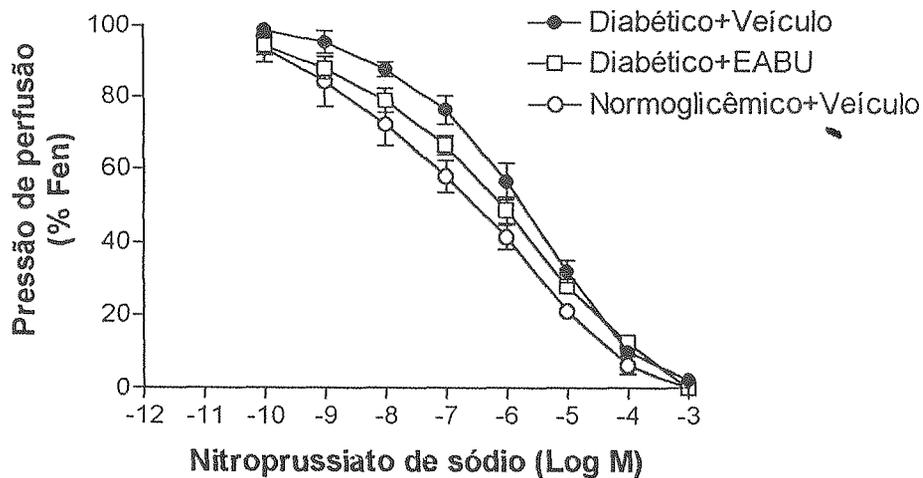
**Figura 31.** Efeito da acetilcolina na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico obtido de ratos euglicêmico e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina (A) e em (B) é mostrado a disfunção endotelial nos animais diabéticos e a prevenção da mesma nos animais tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU), (n=7/grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença de EABU. \*p<0,05, teste de variância ANOVA seguida de Tukey vs. Diabético + salina. # p<0,05, teste de variância ANOVA seguida de Tukey vs. euglicêmico+ salina. DE = Disfunção endotelial, Fen = fenilefrina.

Por outro lado, a resposta máxima para nitroprussiato de sódio (SNP), um agonista endotélio-independente, era semelhante em todos os grupos estudados. A resposta máxima para SNP em aortas de ratos diabéticos foi de  $100,0 \pm 0\%$  ( $PD_2$  5,9 [6,1-5,6]) comparado a  $100,0 \pm 0,0\%$  ( $PD_2$  7,0 [7,3-6,7]) obtido em ratos euglicêmicos, (n=7/grupo, Figura 32).



**Figura 32.** Efeito endotélio-independente induzido pelo nitroprussiato de sódio em anéis de aorta, obtido de ratos euglicêmicos e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina, (n=7/grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença de EABU. SNP = nitroprussiato de sódio, Fen = fenilefrina.

Semelhantermente, não havia diferença entre as respostas para SNP obtidas em leitos mesentéricos de ratos diabéticos ou ratos euglicêmicos. A resposta máxima de diminuição na pressão de perfusão foi de  $100 \pm 0\%$  ( $PD_2$  5.6 [5.9-5.3]) comparado a  $100 \pm 0\%$  ( $PD_2$  6.3 [6.7-5.9]), respectivamente, ( $n=7$ /grupo, Figura 33).



**Figura 33.** Efeito do nitroprussiato de sódio na pressão de perfusão do leito vascular mesentérico obtido de ratos euglicêmicos e de animais com 3 semanas de diabetes induzida por estreptozotocina, ( $n=7$ /grupo). As curvas foram obtidas, em grupos distintos, na ausência e presença do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU). SNP = nitroprussiato de sódio, Fen = fenilefrina.

#### 4.13 Determinação das concentrações de D-*quiro*-inositol (DCI) na urina de ratos diabéticos por aloxana

Os ratos mantidos em gaiolas metabólicas e tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (400 mg/ kg/ 24h; v.o.; durante 3 semanas) apresentaram queda na glicemia ( $52,2 \pm 13 \%$ ) com variação glicêmica a partir de valor controle de  $366,6 \pm 25,1$  mg/dL para  $169,4 \pm 5,7$  mg/dL ( $p < 0,001$ ;  $n = 8$ ) (Tabela 17). Estes resultados contrastam com os resultados obtidos em ratos diabéticos tratados com salina (1 mL/ kg/ 12h ; v.o.; durante 3 semanas), que tiveram variação na glicemia de  $3,6 \pm 6,5 \%$  ( $p > 0,05$ ); ( $341,5 \pm 16,2$  mg/dL vs.  $351,6 \pm 19,4$  mg/dL;  $n = 6$ ) (Tabela 16). No entanto, a queda da glicemia induzida por EABU após terceira semana de tratamento não atingiu níveis de euglicemia ( $169,4 \pm 5,7$  mg/dL vs.  $86,0 \pm 7,6$  mg/dL;  $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ) (Tabela 17).

Ademais, o tratamento com EABU reduziu o nível de triglicérides dos animais diabéticos em  $46,0 \pm 4,8 \%$  ( $p < 0,05$ ;  $n = 8$ ) a partir de valores controle de  $112,0 \pm 11,8$  mg/dL para  $62,3 \pm 15,6$  mg/dL (Tabela 17). Nos animais diabéticos tratados com salina, ao contrário, o nível de triglicérides aumentou após terceira semana ( $93,1 \pm 18,0 \%$ ;  $p <$

0,05; n = 6) variando de um valor controle interno inicial de  $58,7 \pm 10,0$  mg/dL para  $102,0 \pm 9,0$  mg/dL (Tabela 17).

Nos demais parâmetros analisados, *ie*, peso corporal, colesterol total e fracionado não houve alterações significativas, apenas tendência de melhora no perfil lipídico dos animais diabéticos.

Essa tendência de melhora se refletiu na redução do índice aterogênico após tratamento com EABU a partir de um valor controle de  $2,9 \pm 0,3$  vs.  $1,3 \pm 0,2$ ;  $p < 0,001$ ; n = 8.

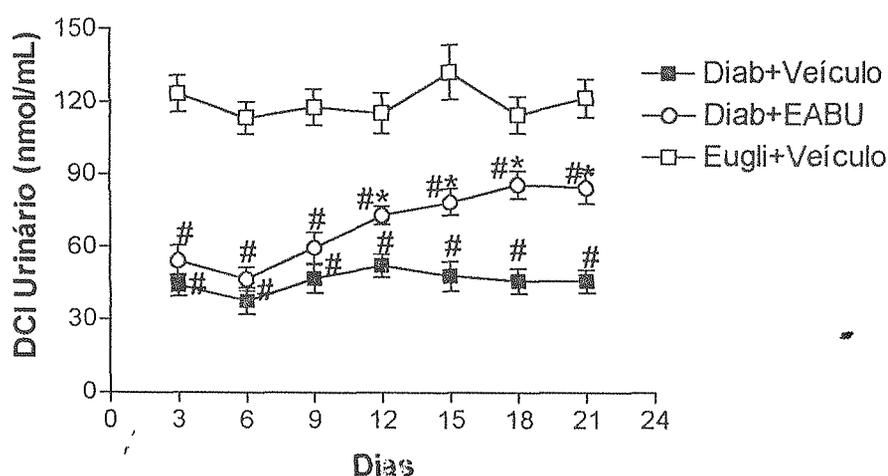
No grupo de ratos diabéticos tratados com salina houve um incremento no índice aterogênico (I.A.) de  $190,9 \pm 23,0$  % com variação absoluta a partir de um controle inicial de  $1,1 \pm 0,18$  para  $3,2 \pm 0,3$  ( $p < 0,001$ ; n = 6) (Tabela 17).

**Tabela 17.** Efeito do tratamento oral de 3 semanas com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) no peso corporal e parâmetros bioquímicos de ratos diabéticos- ALX.

Grupo	n	Peso corporal (g)	Glicose (mg/dL)	TG (mg/dL)	COL (mg/dL)	HDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	I.A.
I- Diabético	6	241,5 ± 16,2	341,5 ± 16,2	58,7 ± 10,0	88,0 ± 5,4	53,2 ± 5,5	45,1 ± 4,3	11,7 ± 2,0	1,10 ± 0,2
I- Diabético + Salina (3-semanas)	6	273,6 ± 19,4	351,6 ± 19,4	102,0 ± 9,0*	96,4 ± 4,6	31,2 ± 3,1	76,0 ± 5,8	20,4 ± 1,8	3,20 ± 0,3*
II- Diabético	8	226,5 ± 17,3	366,6 ± 25,1	112,0 ± 11,8	76,4 ± 4,1	20,8 ± 1,2	36,2 ± 3,2	22,4 ± 2,4	2,90 ± 0,3
II- Diabético + EABU 400 (3-semanas)	8	257,8 ± 14,3	169,4 ± 5,7*	62,3 ± 15,6*	69,8 ± 5,9	31,9 ± 3,7	25,5 ± 4,5	12,5 ± 3,1*	1,30 ± 0,2*
III- Euglicêmico	7	235,4 ± 17,3	86,0 ± 7,6	67,0 ± 4,8	58,7 ± 4,3	26,2 ± 2,5	17,1 ± 2,6	13,4 ± 2,1	1,24 ± 0,3
III- Euglicêmico + Salina (3-semanas)	7	296,3 ± 14,1	81,0 ± 4,7	63,2 ± 5,4	62,0 ± 5,4	21,0 ± 2,4	28,4 ± 3,4	12,6 ± 1,4	1,28 ± 0,2

Salina (1ml/kg/24h, v.o.); EABU (400mg/kg /24h, v.o. Glicemia e perfil lipídico de ratos diabéticos-ALX, \* p<0.05 versus diabético  
 EABU = Extrato Aquoso de *Bauhinia unguolata*; ALX = Aloxana; TG = Triglicéride; COL = Colesterol; HDL = Lipoproteína de Alta Densidade; LDL = Lipoproteína de Baixa Densidade, VLDL = Lipoproteínas de Baixíssima Densidade; IA = Índice Aterogênico

A dosagem de D-qui-ro-ino-si-to-l (DCI) na urina destes ratos mantidos em gaiola metabólica revelou que há uma queda nos níveis de DCI na urina de ratos diabéticos em relação aos euglicêmicos ( $44,3 \pm 4,3$  nmol/ mL vs.  $123,4 \pm 7,4$  nmol/ mL;  $p < 0,001$ ) (Figura 34). O tratamento oral com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) durante três semanas reverteu o nível de excreção de DCI no sentido da normalidade a partir de um valor controle de  $54,3 \pm 6,3$  nmol/ mL para  $84,3 \pm 6,2$  nmol/L ( $p < 0,05$ ) (Figura 34).

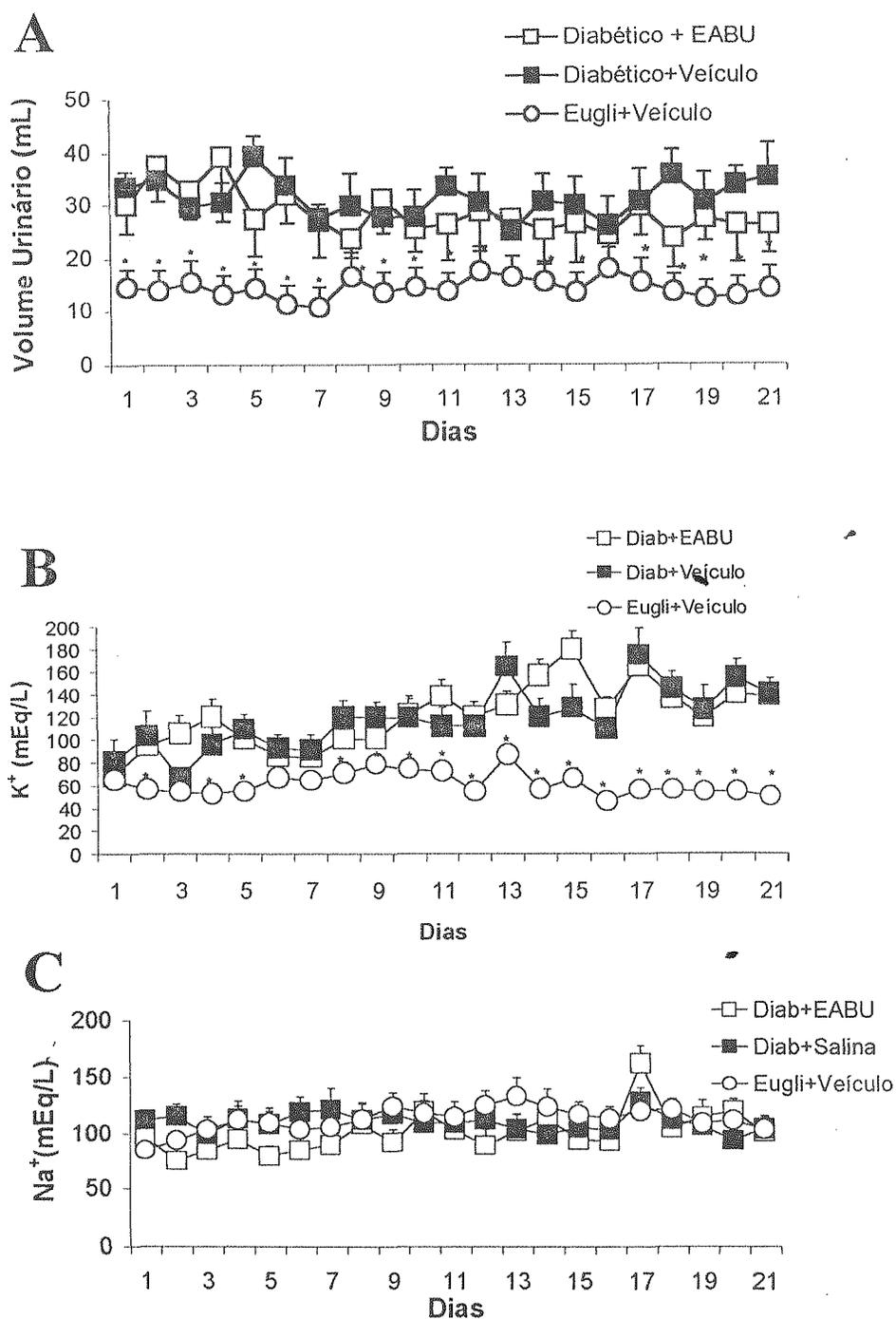


**Figura 34.** Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) na excreção urinária de D-qui-ro-ino-si-to-l (DCI) em ratos diabéticos mantidos em gaiola metabólica tratados com salina ou EABU comparado com a taxa de excreção de ratos euglicêmicos ( $n= 5$  animais/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \*  $p < 0,05$  ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Diabético+Veículo. #  $p < 0,05$  ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Euglicêmico+Veículo.

Nestes mesmos animais a variação do volume urinário e excreção de sódio e potássio foi acompanhada diariamente. O volume urinário aumentou com o diabetes em  $180,3 \pm 37\%$  quando comparado com ratos euglicêmicos variando de  $14,6 \pm 3,8$  mL – eugli para  $33,6 \pm 2,8$  mL –diab ( $p < 0,001$ ) (Figura 35a). Este sintoma se manteve até o fim da terceira semana não sendo significativamente alterado no grupo tratado com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) ( $14,1 \pm 4,3$  mL –eugli vs.  $26,1 \pm 7$  mL –diab + EABU,  $p < 0,01$ ) (Figura 35a).

No que diz respeito à excreção de  $K^+$  e  $Na^+$  houve variações de natureza temporal cíclica que não alcançaram significância estatística. A medida da excreção urinária de  $K^+$  na terceira semana revelou que a diabetes parece incrementar a excreção de potássio ( $58,4 \pm 4,6$  mEq/ L –eugli vs.  $140,2 \pm 13,4$  mEq/ L –diab) e este efeito não é alterado pelo tratamento com EABU ( $138,1 \pm 11,3$  mEq/ L diab + EABU vs.  $140,2 \pm 13,0$  mEq/ L diab + salina) (Figura 35b).

No entanto, não houve variação significativa na excreção de sódio em nenhum dos grupos. Os valores da excreção de sódio no final da terceira semana foram de  $103,7 \pm 10,7$  mEq/ L nos ratos euglicêmicos tratados com salina de  $104,4 \pm 11,3$  mEq/ L nos ratos diabéticos tratados com salina e de  $101,2 \pm 10,3$  mEq/ L nos ratos diabéticos tratados com extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) (Figura 35c).



**Figura 35.** Efeito do extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* (EABU) no volume de excreção urinária (A), excreção de potássio (B) e sódio (C) em ratos diabéticos mantidos em gaiolas metabólicas tratados com salina ou EABU comparado com a taxa de excreção de ratos euglicêmicos (n= 5 animais/grupo). Os dados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média. \* p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs. Diabético+Veículo. # p<0,05 ANOVA seguida da correção de Tukey-Kramer vs.Euglicêmico+Veículo.

---

**DISCUSSÃO**



## 5. DISCUSSÃO

O extrato aquoso de *Bauhinia. unguolata* (EABU) foi caracterizado quimicamente quanto a presença de inositóis através de cromatografia de gás acoplada à espectrometria de massa pelo Dr. Joseph Larner no Laboratório de Insmmed em Rochester, VA, E.U.A.. Foram identificados vários inositóis, especialmente D-qui-ro-inositol (DCI) (6,5%) e pinitol (0,8%) cujos teores estão expressos em g % do extrato seco. Estes compostos possuem efeitos hipoglicemiantes já demonstrados (NARAYANAN, 1987; FONTELES *et al.*, 1996 e 1998) e poderiam contribuir para o efeito hipoglicemiante induzido pelo EABU. Não obstante, outros compostos não identificados podem agir em sinergismo, em adição ou até mesmo antagonizando o efeito dos inositóis.

A identificação do D-qui-ro-inositol (DCI) e mio-inositol em quantidades apreciáveis no extrato aquoso de *Bauhinia. unguolata* (EABU) e a ocorrência de efeitos semelhantes à insulina e à sensibilização à ação da insulina induzida por estes compostos, permitiu sugerir que sejam estes compostos os prováveis princípios ativos de ação antidiabética de *B. unguolata*. Inositóis, especialmente o D-qui-ro-inositol, possuem atividade

antidiabética, definida como melhora do controle glicêmico, combate à seqüela da diabetes e melhora da sensibilidade à insulina.

A quantidade de potássio mensurada no extrato aquoso ( $13,6 \pm 2,6$  mEq/ L) não foi capaz de alterar a pressão arterial e as quantidades de sódio ( $126,0 \pm 9,6$  mEq/ L) foram consideradas isosmóticas com plasma. Portanto, os níveis destes eletrólitos, principalmente, após injeção aguda em *bolus*, parecem não interferir nos efeitos agudos do extrato, pelo menos na pressão arterial.

Por outro lado, a administração oral de EABU a camundongos até uma dose de 3 g/ kg não provocou nenhuma sintomatologia digna de nota, demonstrando sua baixa toxicidade por esta via. No entanto, quando administrado por via intra-peritoneal provocou morte de alguns animais em doses superiores a 300 mg/ kg com  $DL_{50}$  de 440 [259 – 621] mg/ kg. Nesta faixa de  $DL_{50}$ , segundo HODGE e STERNER (1949), uma substância é considerada de toxicidade média. De maneira similar, a administração de EABU (400 mg/ kg; v.o.; durante 30 dias) não induziu nenhuma sintomatologia digna de nota e nem afetou o ganho de peso.

A avaliação hematológica ou de alguns marcadores bioquímicos séricos de função renal e hepática também não revelavam alterações dignas de nota, o que demonstra a baixa toxicidade do EABU. Portanto, o extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* quando administrado por via oral na dose de 400 mg/ kg é praticamente destituído de toxicidade significativa.

A análise histopatológica também não revelou alterações significativas em nenhum dos órgãos examinados, i. e., coração, pulmões, rins, fígado, baço e cérebro. Estes dados toxicológicos corroboram com os dados de LUZ e cols. (1996) e LINO e cols. (2002) que demonstraram que outra espécie correlata de *Bauhinia*, a *B. forficata*, que apresenta DL50 de 2,8 g/ Kg por via intra peritoneal e de até 5,0 g/ Kg por via oral, não apresentou efeito tóxico significativo.

Vários estudos têm demonstrado a atividade hipoglicemiante de extratos de folhas de muitas espécies de *Bauhinia* principalmente a *B. forficata* (JULIANI, 1929 e 1941; COSTA, 1945; ALMEIDA, 1984; PEPATO, 1998), *B. candicans* (LEMUS *et al.*, 1999; SHANI *et al.*, 1994), *B. cheilantha* (ALMEIDA *et al.*, 1997), *B. megalandra* (GONZALEZ-MUJICA *et al.*, 1998, 2000 e 2003), *B. monandra* (ANJOS *et al.*, 1994;

MINTO et al., 2000) e *B. variegata* (WAZLAWIK et al., 1994) e também de *B. unguolata* (MORAES e ANDRADE, 1996).

Um estudo clínico preliminar conduzido no município de Maracanaú mostrou que 40 % (6 de 15) dos pacientes conseguiram manter a glicemia apenas com uso da tintura de *B. unguolata* (MORAIS e ANDRADE, 1996). ANJOS et al. (1994) relatam que a administração oral de um extrato hidroalcoólico das folhas de *Bauhinia monandra* (500 mg/kg) reduz a glicemia de rato diabético induzida por aloxana de maneira tempo-dependente (1<sup>a</sup>, 2<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> hora após administração) a partir da 1<sup>a</sup> hora após administração, com valores de  $494,5 \pm 20,4$  (controle interno inicial) e  $286,6 \pm 3,5$ ;  $229,6 \pm 2,4$  e  $140,4 \pm 5,5$  (todos significantes a nível de 5 %). Este valor de redução da glicemia na 4<sup>a</sup> hora foi significativamente maior que a redução induzida por insulina ( $71,6 \pm 4,7$  vs.  $59,5 \pm 3,3$  %, respectivamente) com variação de  $472,2 \pm 25,4$  mg/dL para  $191,4 \pm 4,7$  mg/dL. No entanto, apenas alguns destes trabalhos tem apontado, ainda que de maneira incipiente, dados sobre toxicidade, ou mecanismo de ação hipoglicemiante ou sobre qual (is) seriam o (s) princípio (s) ativo (s) responsável (is) pelos efeitos descritos.

O presente estudo apóia e parece justificar o estudo anterior de MORAIS e ANDRADE (1996) e demonstra efeito hipoglicemiante de *B. unguolata* em pacientes diabéticos. Aqui se demonstrou o efeito hipoglicemiante em modelo animal experimental, após administração oral ou intravenosa de maneira aguda e manutenção do controle glicêmico após tratamento de 3 semanas.

O EABU não induziu efeitos hipoglicemiantes em ratos euglicêmicos, o que está em conformidade com dados previamente relatados para *B. forticata* (ALMEIDA E AGRA, 1984; SOUSA, 2004). Este achado também demonstra que o EABU tem um mecanismo de ação diferente das sulfoniluréas, que são efetivas em diminuir a glicose sanguínea em ratos euglicêmicos, aumentando liberação de insulina (GOTH, 1978). A ausência de diferença entre os efeitos hipoglicemiantes obtidos após administração oral ou intravenosa denota também que o EABU age induzindo um aumento da captação tecidual de glicose, mais do que através de um efeito inibitório na absorção de glicose.

Os efeitos, tanto da infusão de EABU como da administração oral foram potenciados quando se administrou o extrato etanólico da *Bauhinia unguolata*. Este procedimento químico aumenta a extração de açúcares como

os polióis (inositóis inclusos), o que pode explicar a potenciação obtida com este extrato. Estes dados são reforçados pelo efeito hipoglicemiante de magnitude semelhante e sem induzir hipoglicemia, obtido com os inositóis sintéticos (DCI e me-DCI) tanto por via oral, como endovenosa.

A quantidade de DCI (6,5 %) e me-DCI (0,8 %) no EABU (400 mg), corresponde a 26 mg de DCI e 3,2 mg de me-DCI. Quando utilizados na dose de 20 mg/Kg ambos têm boa atividade hipoglicemiante, tanto por via endovenosa como por via oral. Quando comparados com o efeito do EABU, a hipoglicemia induzida pelos inositóis não difere estatisticamente. A possibilidade destes agentes serem os principais mediadores dos efeitos hipoglicemiantes do EABU é reforçada pelo fato de que, além dos inositóis serem efetivos por via endovenosa e oral em dose equivalente (pelo menos para o DCI) ao encontrado no EABU, apresentam curvas cinéticas semelhantes nos experimentos agudos e têm pico de atividade em tempos semelhantes (80-120 min).

No entanto, a possibilidade de interação sinérgica, aditiva ou mesmo antagônica com outros componentes da planta não foi avaliada neste estudo e não pode, portanto, ser descartada. Neste sentido, pelo menos um trabalho, o de GONZALEZ-MUJICA e cols., (2003) associa o

efeito hipoglicemiante observado com extrato aquoso de *B. megalandra* à presença de flavonóides. No entanto esta observação foi baseada apenas na presença de relatos sobre a atividade hipoglicemiante de flavonóides (AL-AWWADI et al., 2004; ONG e KHOO, 2000; ZARZUELO et al., 1996; NARALIEV e AVEZOV, 1992) em conjunto com o isolamento de metoxiflavonóides nesta espécie. Nenhum estudo comparativo foi utilizado para testar esta hipótese. Nenhum trabalho, portanto, aponta para um provável princípio ativo para renomada atividade antidiabética das espécies de *Bauhinias* (JULIANI, 1929 e 1941; ALMEIDA, 1984; ANJOS et al., 1994; WAZLAWIK et al., 1994; MORAIS e ANDRADE, 1996; ALMEIDA et al., 1997, SHANI et al., 1994; PEPATO, 1998; GONZALEZ-MUJICA et al. 1998; LEMUS et al., 1999; GONZALEZ-MUJICA et al., 2000 e MINTO et al., 2000)

A associação entre inositóis e resistência insulínica tem também sido estabelecida nos últimos anos (KENNINGTON et al., 1990; ASPLIN et al., 1993; ORTMEYER et al., 1993; SUZUKI et al., 1994; YOSHINO et al., 1999; NESTLER et al., 1999; DAVIS et al., 2000). O pinitol (me-DCI) tem sido relatado como princípio ativo hipoglicemiante de outra planta, a *Bougainvillea spectabilis* Willd. (NARAYANAN, 1987) e como tendo atividade semelhante à da insulina (BATES et al., 2000). De qualquer

maneira, o uso de extratos, como o etanólico de *Bauhinia unguolata* com eficácia hipoglicemiante semelhante por via oral a um antidiabético convencional do grupo das sulfoniluréias, glibenclamida, pode ser uma alternativa econômica para tratamento da diabetes tipo 2. Além do mais, levando-se em conta a eficácia hipoglicemiante desta planta (*Bauhinia unguolata* L.) parece não ser acompanhada de toxicidade digna de nota.

O efeito do EABU no teste de tolerância à glicose demonstra uma ação protetora que pode dever-se à atividade hipoglicemiante por ação no metabolismo da captação tecidual da glicose e/ ou pela diminuição da absorção da mesma. Pelo menos, GONZALEZ-MUJICA e cols. (2003) demonstraram que um extrato aquoso das folhas de *Bauhinia megalandra* inibe a captação intestinal de glicose e sugerem que este efeito se deve à inibição do cotransportador de  $\text{Na}^+$ - glicose (SGLT1). No entanto, como o efeito por via oral é equivalente ao efeito obtido por via endovenosa, a diminuição da absorção de glicose não parece ser um mecanismo importante para o efeito da *B. unguolata*. O efeito desta planta no teste de tolerância a glicose demonstra que a mesma é capaz de proteger ratos euglicêmicos de pico de glicose e denota uma possível eficácia no controle do pico pós-prandial de glicose e prevenção ou reversão de intolerância a

glicose. Este efeito foi comparável ao pré-tratamento com glibenclamida uma sulfoniluréia utilizada como antidiabético oral.

A administração do EABU por 3 semanas pela via oral controlou a glicemia de ratos diabéticos por estreptozotocina com impacto no ganho de peso, no perfil lipídico e no índice aterogênico. Além de seu efeito hipoglicemiante, o extrato aquoso da *B. unguolata* reduziu o índice aterogênico dos animais diabéticos por estreptozotocina. Esta ação é um reflexo principalmente da diminuição no nível de colesterol total e no nível de triglicérides. Esta atividade no índice aterogênico foi similar ao obtido com os inositóis e insulina e pode significar a interação de vários princípios (inositóis e flavonóides, por exemplo), uma vez que a tendência de redução é maior do que a dos controles positivos. Este efeito foi confirmado em estudos específicos, nos quais se demonstrou a atividade hipolipemiante do EABU. O severo incremento no nível de triglicérides e colesterol induzido por tiloxapol foi reduzido significativamente pelo EABU na dose de 400 mg/ kg. Esta atividade associada a sua ação hipoglicemiante pode representar um controle adicional em fatores de risco individuais para o sistema cardiovascular.

A atividade do EABU na dislipidemia foi superior, no modelo animal utilizado, ao fibrato utilizado como controle positivo, gemfibrozil (Lopid<sup>®</sup>), tanto nas primeiras 24 horas, como depois de 48 horas da indução da dislipidemia. Esta atividade não foi devido a uma regressão espontânea, uma vez que os valores de colesterol e triglicérides permaneceram aumentados nos animais tratados apenas com salina até as 48 horas experimentais.

Tanto a hipercolesterolemia, como a hipertrigliceridemia são fatores de risco individual para aterosclerose, com risco aumentado de infarto do miocárdio, acidente vascular encefálico entre outros (JAYE e KRAWIEC, 2004; BALLIGAND, 2002; LIBBY, 2003; SHAHAR et al., 2003).

Além de reduzir fatores de risco como hiperglicemia e hiperlipidemia, o extrato aquoso de *Bauhinia unguolata* tem atividade hipotensora. A hipotensão induzida pelo EABU não é acompanhada de bradicardia e portanto, não é devido à redução aguda do débito cardíaco.

A possibilidade de uma interação agonista direta do EABU com receptores colinérgicos ou a possibilidade de um bloqueio  $\alpha$ -adrenérgico

foi descartada, uma vez que esta atividade hipotensora do EABU não foi afetada pela atropinização dos animais e não foi alterada na vigência do bloqueio  $\alpha$ -adrenérgico por fentolamina. A eficácia destes bloqueadores havia sido previamente testada com injeções de acetilcolina e fenilefrina, respectivamente. Portanto, a possibilidade de uma interação direta ou indireta do EABU com estes receptores é improvável. De maneira similar, a possibilidade do EABU diminuir a resistência periférica, através do agonismo direto ou indireto com receptores  $\beta$ -adrenérgicos vasculares é pouco provável, uma vez que o efeito hipotensor não é alterado pelo pré-tratamento com propanolol, apesar do mesmo bloquear na dose utilizada, o efeito hipotensor induzido pelo isoproterenol.

A provável participação de autacóides de origem plasmática ou tecidual, como serotonina, histamina ou prostanóides também foi descartada, uma vez que bloqueadores de receptores serotoninérgicos ou histaminérgicos, usados em doses suficiente para bloquear o efeito do agonista respectivo administrado exogenamente em doses farmacológicas ou o bloqueio da síntese de prostanóides não alteraram a resposta hipotensora induzida pelo EABU. Destes, a prometazina, bloqueador histaminérgico inespecífico diminuiu um pouco a resposta hipotensora, no entanto a tendência ao bloqueio não foi estatisticamente significativa para o

efeito hipotensor do EABU. Um componente menor de natureza histaminérgica direto ou indireto, não pôde ser descartado completamente devido ao pequeno número de animais testados. Contudo, o componente principal do efeito hipotensor não é de natureza histaminérgica.

O efeito hipotensor do EABU parece estar associado à redução da resistência periférica, uma vez que é significativamente diminuído pelo pré-tratamento dos animais com hexametônio. O hexametônio, bloqueador ganglionar, retira o componente tônico simpático de manutenção da resistência periférica (LALHOU et al., 2004). Portanto, na vigência do bloqueio ganglionar com hexametônio, a pressão arterial é mantida principalmente pelo débito cardíaco. A diminuição do efeito do EABU na vigência de bloqueio ganglionar sugere que este extrato induz a um efeito hipotensor por diminuir a resistência periférica. Esta hipótese, do efeito vascular direto, foi avaliada nos vasos de resistência mesentéricos e demonstrada ser verdadeira. O EABU induz a um efeito vasodilatador direto em leito arteriolar mesentérico com  $CE_{50}$  (1,8 [1,3 – 2,5] mg) compatível com a possibilidade deste efeito ser responsável pela hipotensão induzida após administração endovenosa de EABU. O fato desse efeito vasodilatador ser dose-dependente, assim como o efeito hipotensor, reforça a hipótese de que o efeito hipotensor tem um componente majoritário de

diminuição da resistência periférica. A possibilidade das concentrações altas de potássio no EABU (13 mEq /L) terem um efeito na PAM foi eliminada pela ausência de efeito hipotensor de uma solução contendo a mesma concentração de potássio do EABU.

Por outro lado, um dos eventos principais observados durante a diabetes, que precede a macro e a microangiopatia, é a disfunção endotelial, que ocorre principalmente devido à expressão e atividade prejudicada da óxido nítrico sintetase (BROWNLEE, 2001). A administração oral de EABU durante três-semanas, parcialmente restabeleceu o relaxamento endotélio-dependente induzido por acetilcolina em anéis de aorta e no leito mesentérico arteriolar dos ratos STZ-diabéticos. O relaxamento induzido por nitroprussiato de sódio, um agonista endotélio-independente, não foi afetado. Isto significa que o efeito de EABU provavelmente está direcionado às células endoteliais e que não envolve uma melhora inespecífica da reatividade da musculatura lisa vascular. Este efeito provavelmente poderia ser relacionado à redução aguda de concentração de triglicérides e glicose do soro induzida por EABU, uma vez que esta alta glicose plasmática ou alta concentração de triglicerides são fatores de risco individuais para a disfunção endotelial (LUDMER *et al.*, 1986; HANSEN, 1999). Portanto, a redução dos fatores de risco para a disfunção endotelial,

parecem ser os principais responsáveis pelo efeito vasoprotetor observado com o tratamento com EABU, mais do que uma reversão direta da disfunção endotelial.

O tratamento de ratos tornados diabéticos pela aloxana com EABU durante 3 semanas tendeu a restaurar os níveis de DCI na urina. Estes dados corroboram com os achados de KENNINGTON *et al.* (1990), que relataram uma melhora dos níveis de DCI após tratamento com insulina. A melhora dos níveis de DCI na urina pode indicar um benefício adicional do EABU em pacientes com resistência insulínica, que seria o de combater a perda de DCI e sensibilizar os tecidos à resposta da insulina que é induzida pelo mesmo, resposta semelhante a drogas sensibilizadoras, como a troglitazona ou metiformina (YOSHINO *et al.*, 1999; SETTER *et al.*, 2003).

Por outro lado, KENNINGTON e cols. (1990) relataram níveis anormalmente baixos ou não mensuráveis de D-qui-ro-inositol na urina e músculos esqueléticos de pacientes com *Diabetes mellitus* do tipo 2 e sugeriram que a deficiência de D-qui-ro-inositol pode estar relacionada com a resistência insulínica observada no diabetes tipo 2.

Este efeito de aumento da excreção de DCI nos animais tratados com EABU provavelmente reflete aumento dos níveis circulantes de DCI induzido por EABU. Este fenômeno não se relaciona com um potencial efeito diurético do EABU, uma vez que o mesmo não incrementa o volume urinário e nem apresenta efeito natriurético ou caliurético.

ASPLIN, GALASKO e LARNER., (1992), também relataram níveis diminuídos de DCI na urina de pacientes com diabetes tipo 2 de uma população de brancos da Virginia (E.U.A) e de índios Pima. Outros grupos têm demonstrado que a excreção urinária de DCI é muito menor em pacientes diabéticos do que em controle euglicêmicos (SUZUKI et al., 1994; ORTMEYER et al., 1993) acompanhada de aumento na excreção de mio-inositol (CLEMENTS e REYMERTSON, 1977; LARNER, 2003). Todos estes estudos apontam ainda para uma relação linear entre uma excreção urinária diminuída de DCI e o grau de resistência insulínica presente. Por outro lado, a administração de D-qui-ro-inositol em ratos diabéticos, macacos *Rhesus* e humanos, acelera a utilização de glicose e sensibiliza os tecidos à ação da insulina. Ademais, o mecanismo associado à diminuição da excreção de DCI começou a ser elucidado com a descoberta de que há um defeito, demonstrado *in vivo*, na epimerização do mio-inositol a D-qui-ro-inositol em tecidos insulino-dependentes em ratos

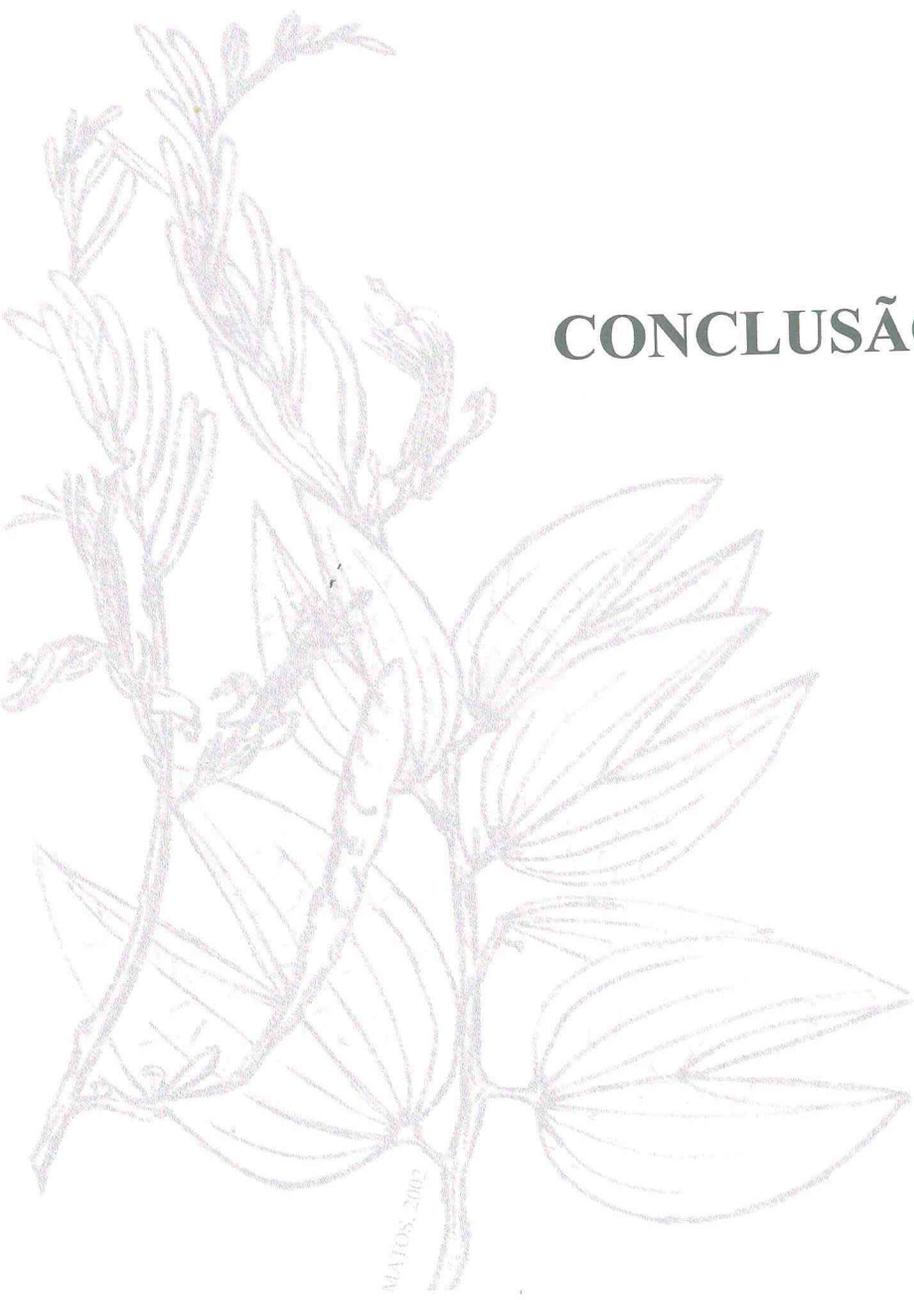
*Goto-Kakizaki*, um modelo animal de diabetes tipo 2 (SUN *et al.*, 2002). Portanto, a administração de D-quirto-inositol pode funcionar como um “bypass” da síntese defeituosa de DCI a partir da epimerização do mio-inositol que está associada à resistência insulínica e assim restaurar pelo menos parcialmente, a sensibilidade à insulina e melhorar a utilização da glicose.

De maneira similar ao obtido em ratos diabéticos por estreptozotocina, o EABU apresentou efeito hipoglicemiante acompanhado de diminuição significativa do índice aterogênico de ratos diabéticos por aloxana. Isto demonstra que o EABU tem atividade hipoglicemiante e hipolipemiante direta e específica, que independe do agente indutor utilizado.

A validação da atividade hipoglicemiante, antilipêmica, vasodilatadora desta planta é altamente estimulante tendo em vista que esta associada a efeito vasoprotetor direto na disfunção endotelial. Uma vez que este fenômeno precede e acentua aqueles associados ao diabetes e assim podemos vislumbrar seu potencial terapêutico da diabetes do tipo 2. Associada a isto, esta planta restaura os níveis de DCI, uma molécula com ação sensibilizadora dos tecidos à ação da insulina e portanto, importante no controle da resistência insulínica.

---

**CONCLUSÃO**



MATOS, 2002

## 6. CONCLUSÃO

As folhas de *B. unguolata* são ricas em inositóis com ação hipoglicemiante comprovadas, D-qui-ro-inositol e pinitol.

A toxicidade relativa do extrato aquoso de *B. unguolata* é baixa após administração por via oral.

A infusão do extrato aquoso ou administração oral produzem efeitos hipoglicemiantes agudos que permanecem por até 2 horas.

Este efeito hipoglicemiante é reproduzido com a mesma intensidade e duração tanto pela administração endovenosa, como oral de D-qui-ro-inositol ou pinitol, em doses equivalentes às encontradas no extrato, pelo menos para o D-qui-ro-inositol.

O extrato etanólico tem efeito hipoglicemiante mais potente que o extrato aquoso da *B. unguolata*, com atividade semelhante à insulina.

Os efeitos obtidos por via oral são equivalentes aos obtidos com uso do antidiabético oral glibenclamida.

O extrato aquoso de *B. unguolata* protege ratos euglicêmicos contra sobrecarga de glicose mostrando uma maior tolerância à glicose nos animais tratados.

A administração oral do extrato aquoso de *B. unguolata* confere bom controle glicêmico após 3 semanas de administração oral.

Neste mesmo protocolo, o extrato aquoso de *B. unguolata* apresentou atividade hipolipemiante e diminuiu o índice aterogênico dos animais.

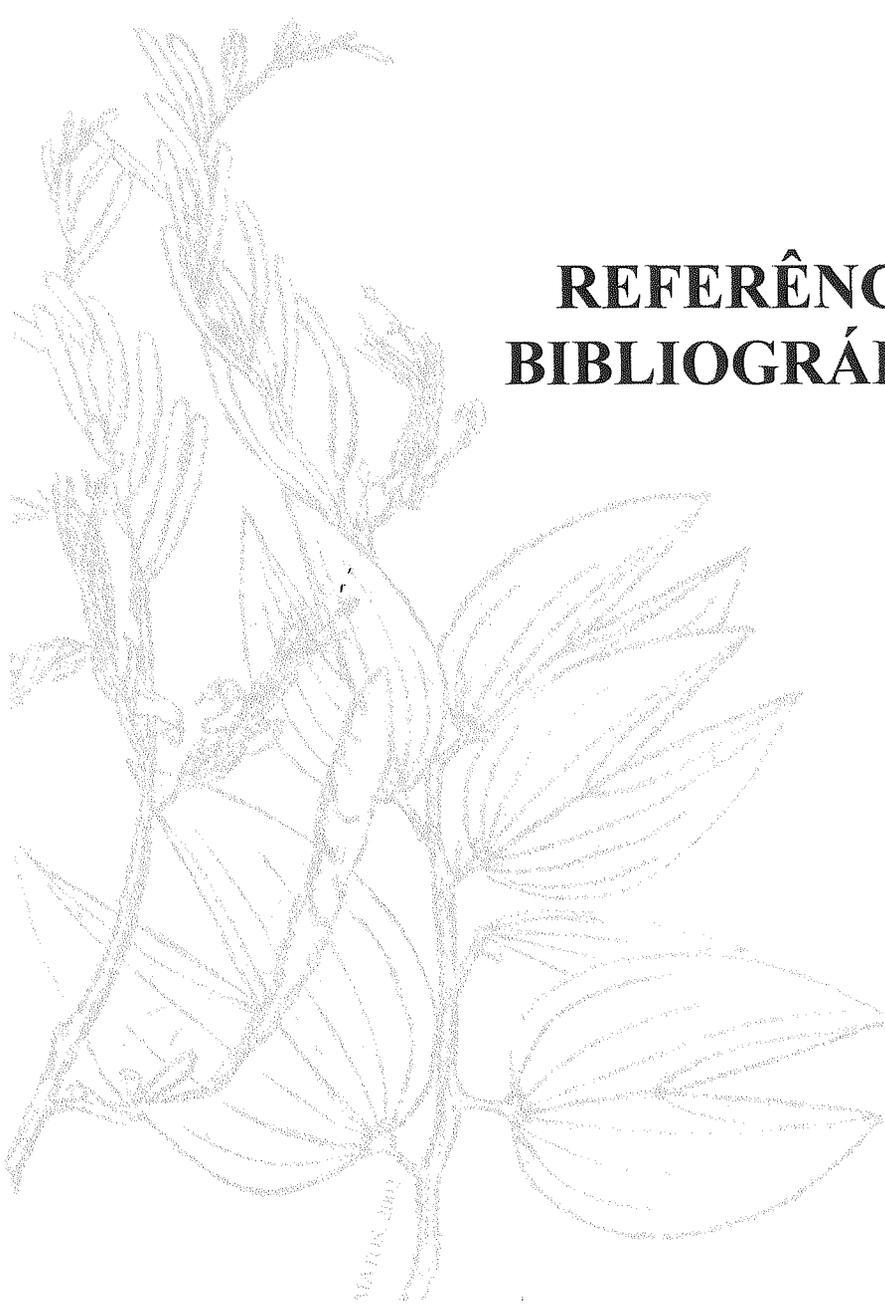
O extrato aquoso de *B. unguolata* apresentou atividade hipolipemiante direta com efeito hipotrigliceridemiante e hipocolesterolemiante.

O extrato aquoso de *B. unguolata* tem atividade hipotensora dose-dependente por diminuição da resistência periférica *in vivo*. Apresenta também atividade vasodilatadora de vasos de resistência *in vitro*.

O extrato aquoso de *B. unguolata* restaura os níveis urinários de D-quiuro-inositol em ratos diabéticos por aloxana.

---

**REFERÊNCIAS  
BIBLIOGRÁFICAS**



## 7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIRU, T. Y.; WATANABE, Y.; KAMATA, K.; MIYATA, N.; KASUYA, Y. Decrease in endothelium-dependent relaxation and levels of cyclic nucleotides in aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, v. 68, p. 13 – 25, 1990a.
- ABIRU, T., KAMATA, K., MIYATA, N., KAZUYA, Y. Differences in vascular responses to vasoactive agents of basillary artery and aorta from rabbits with alloxan-induced diabetes. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, v.68, p.882-888, 1990b.
- ACHENBACH, H.; STOECKER, M.; CONSTENLA, M. A. Constituents of tropical medicinal plants. Part 31. Flavonoid and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry*, v. 27, n. 6, p. 1835 – 1841, 1988.
- AKHTAR, A. H.; AHMAD, K. U. Anti-ulcerogenic evaluation of the methanolic extracts of some indigenous medicinal plants of Pakistan in aspirin-ulcerated rats. *J. Ethnopharmacol.*, v. 46, n. 1, p. 1 – 6, 1995.
- AL-AWWADI, N.; AZAY, J.; POUCHERET, P.; CASSANAS, G.; KROSNIAK, M.; AUGER, C.; GASC, F.; ROUANET, J.M.; CROS, G.; TEISSEDE, P.L. Antidiabetic activity of red wine polyphenolic extract, ethanol, or both in streptozotocin-treated rats. *J Agric Food Chem.*, v.52, n.4, p.1008-1016, 2004.
- ALBERTI, K.G.M.M.; ZIMMET, P.Z. For the WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of *diabetes mellitus* and its complications, Part 1: Diagnosis and classification of *diabetes mellitus*, provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Med.*, v.15, p.539-53, 1998.
- ALMEIDA, R.; AGRA, M.F. Levantamento da Flora Medicinal de Uso no Tratamento da Diabete e Alguns Resultados Experimentais. **VIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, Manaus, p. 23, 1984, 1984.
- ALMEIDA, E. R.; XAVIER, H. S.; GUEDES, M. C. Estudo preliminar da ação hipoglicemiante do extrato metanólico das folhas de *Bauhinia cheilantha* Steud. (*Fabaceae*) em ratos. In: **II Jornada Paulista de Plantas Medicinais. Resumos da II Jornada Paulista de Plantas Medicinais**, Campinas, p. 126 – 126, 1997.

ALMEIDA, R. N. Ações farmacológicas do extrato etanólico da *Bauhinia forficata* L. In: XXXVI Reunião Anual da SBPC. **Resumos da XXXVI Reunião Anual da SBPC**, 09-G.1.7, p. 877, 1984.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina, bases clínicas e farmacológicas**. Buenos Aires: Isis Ediciones S. R. L., p. 805 – 806, 2000.

ALVAREZ, J. F.; CABELLO, M. A.; FELIU, J. E.; MATO, J. M. A phospho-oligosaccharide mimics insulin action on glycogen phosphorylase and pyruvate kinase activities in isolated rat hepatocytes. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 147, p. 765 – 771, 1987.

AMOS, A.F.; MCCARTY, D.J.; ZIMMET, P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. **Diabet Med.**, v.14, n.5, p.81-85, 1997.

ANAND, P.; KOHOSA, L.; RATTAN, L. Chemical studies on *Bauhinia racemosa*. **Curr. Sci.**, v. 45, n. 19, p. 705, 1976.

ANDERSON, L.C. Insulin-stimulated protein synthesis in submandibular acinar cells: interactions with adrenergic and cholinergic agonists. **Horm Metab Res.**, v.20, n.1, p.20-23, 1988.

ANGELI, J. **Flora analítica e fitogeográfica do Estado de São Paulo**. 1<sup>a</sup> ed. São Paulo: Phytton, p. 238 - 240, 1969.

ÂNGULO, J.; CUEVAS, P.; FERNANDEZ, A.; GABANCHO, S.; ALLONA, A.; MARTIN-MORALES A.; MONCADA, I.; VIDELA, S.; SAENZ DE TEJADA, I. Diabetes impairs endothelium-dependent relaxation of human penile vascular tissues mediated by NO and EDHF. **Biochem Biophys Res Commun.**, v. 312, n.4, p.1202-1208, 2003.

ANJANEYULU, A. S. R.; RAHGAVA, R. A. V.; CAMERON, T. S.; ROE, S. P. Racemosol: a novel tetracyclic phenol from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, v. 42, n. 9, p. 2417 – 2420, 1986.

ANJANEYULU, A. S. R.; REDDY, A. V.; REDDY, D. S. K.; WARD, R. S.; ADHIKESAVALU, D.; CAMERON, T. S. Pacharin: a new dibenzo (2,3-6,7) Oxipin derivative from *Bauhinia racemosa* Lamk. **Tetrahedron**, v. 40, n. 21, p. 4245 – 4252, 1984.

ANJOS, F. B. R. **Estudo da atividade antidiabética e outros efeitos farmacológicos relativos a pata-de-vaca (*Bauhinia monandra* Kurz).** Recife, 1995. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.

ANJOS, F. B. R.; CANTO JÚNIOR, A. S.; LEÔNCIO, M. P.; SANTOS, R. V. H.; AFIATPUOR, P.; LIMA, V. C. Estudo do extrato hidroalcoólico (EHA) das folhas de *Bauhinia monandra* kurz sobre a glicemia de ratos diabéticos. In: IX Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental. Resumos da IX Reunião Anual da FeSBE, Caxambú, p.207 – 207, 1994.

ASPLIN, I.; GALASKO, G.; LARNER, J. Chiro-inositol deficiency and insulin resistance: a comparison of the chiro-inositol and the myo-inositol containing insulin mediators isolated from urine, hemodialysate and muscle of control and type II diabetic subjects. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 5924 – 5928, 1993.

ATKINSON, M.A.; EISENBARTH, G.S. Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment. **Lancet.**, v.358, p.9277, p.221-229, 2001.

AZEVEDO, C. R.; MACIEL, F. M.; SILVA, L.B.; CUNHA, M.; OLIVEIRA, A. E. A., XAVIER-FILHO, J. Partial characterization of insulin-like peptide in *Bauhinia variegata* chloroplasts In: XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. **Anais da XXXII Reunião Anual da SBBq**, Caxambu, 2003.

BAILEY, C. J.; DAY, C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. **Diabetes Care**, v.12, n. 8, p. 553 - 564, 1989.

BALLIGAND, J.L. New mechanisms of LDL-cholesterol induced endothelial dysfunction; correction by statins. **Bull Mem Acad R Med Belg.**, v.157, n.10-12, p.427-431, 2002.

BATES, S.H., JONES, R.B., BAILEY, C.J. Insulin-like effect of pinitol. **Br J Pharmacol.**, v.130, n.8, p.1944-1948, 2000.

BELL, R. H.; HYE, R. J. Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. **J. Surg. Res.**, v. 35, n. 5, p. 433 - 460, 1983.

- BERG, M. E. VAN DEN. **Plantas medicinais na Amazônia: contribuição ao seu conhecimento sistemático.** Belém: Museu paraense Emílio Goeldi, 1982. 223 p.
- BEVER, B. O. Oral hypoglycaemic plants in West Africa. **J. Ethnopharmacol.**, v. 2, n. 2, p. 119 - 127, 1980.
- BEVER, B. O.; ZAHND, G. R. Plants with oral hypoglycemic action. **Quarterly Journal of Crude Drug Research**, v. 17, p. 139 – 196, 1979.
- BONONI, V. L. R.; FIDALGO, O. **Técnicas de coleta, preservação e herborização de material botânico.** São Paulo : Instituto de Botânica, v.1, 1984. 62 p.
- BRAGA, R. A. **Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará.** 3ª ed. Escola superior de Agricultura, Coleção Mossoroense, v. XLII, Mossoró, 1976.
- BRAME, L.; VERMA, S.; ANDERSON, T.; LTEIF, A.; MATHER, K. Insulin resistance as a therapeutic target for improved endothelial function: metformin. **Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord.**, v. 4, n.1, p.53-63, 2004.
- BRASIL, Ministério da Saúde, DATASUS, <http://hiperdia.datasus.gov.br>, 1988.
- BRASIL, Ministério da Saúde. **Utilização de plantas medicinais pela população das áreas de unidades elementares da Fundação SESP.** Rio de Janeiro: Fundação Serviços de Saúde Pública, 1988. (Série Estudos e Pesquisas, v.1)
- BROWN, S.A.; DAVIS, L.E. **Principles of Pharmacology.** Em: **Veterinary Pharmacology and Therapeutics.** Adams, H.R. p. 3-8. Eighth ed., Iowa State University Press, USA, 2001.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, p. 813 – 820, 2001.
- BRUNING, J.C.; MICHAEL, M.D.; WINNAY, J.N.; HAYASHI, T.; HORSCH, D.; ACCILI, D.; GOODYEAR, L.J.; KAHN, C.R. A muscle-specific insulin receptor knockout exhibits features of the metabolic syndrome of NIDDM without altering glucose tolerance. **Mol Cell.**, v.2, n.5, p.559-569, 1998.

BRUNO, R.M.; GROSS, J.L. Prognostic factors in Brazilian diabetic patients starting dialysis: a 3.6 year follow-up study. **Journal of Diabetes and its Complications**, v.14, p.266 - 271, 2000.

BRUZIK, K. S.; HAKEEM, A. A.; TSAI, M. D. Are D – and L–chiro-phosphoinositides substrates of phosphoinositol–specific phospholipase. **C. Biochem.**, v. 33, p. 8367 – 8374, 1994.

CALVER, A.; COLLIER, J.; VALLANCE, P. Inhibition and stimulation of nitric oxid synthesis in the human forearm arterial bed of patients with insulin-dependent diabetes. **Journal of Clinical Investigation**, v. 90, n. 25, p. 48 – 54, 1992.

CARVALHO, J. C. T.; FERREIRA, L. P.; SANTOS, L. S.; VIANA, E. P.; ALMEIDA, S. S. M. S.; MARCONATO, E.; RODRIGUES, M. Anti-inflammatory and analgesic activities of the stem bark of *Bauhinia guianensis* Aubl. **Pharmaceutical Biology**, v. 37, n. 4, p. 281 – 284, 1999.

CARVALHO, P. E. R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidades e uso da madeira**. Brasília: EMBRAPA-CNPQ/SPI, 1994. 640 p.

CECHINEL FILHO, V. Principais avanços e perspectivas na área de produtos naturais ativos: estudos desenvolvidos no NIQFAR/ UNIVALI. **Quim. Nova**, v. 23, n. 5, 2000.

CECHINEL FILHO, V.; BREVIGLIERI, E.; WILLAIN FILHO, A.; SANTOS, A. R. S. Estudo fitoquímico e avaliação preliminar da atividade analgésica de *Bauhinia splendens*. **Revista Brasileira de Farmácia** (Associação Brasileira dos Farmacêuticos), v. 76, n. 4, p. 115 – 117, 1995.

CHANDER, R.; KHANNA, A. K.; KAPOOR, N. K. Lipid lowering activity of guggulsterone from *Commiphora mukul* in hyperlipemic rat. **Phytotherapy Res.**, v.10, p. 508 - 511, 1996.

CHEN, C. C.; CHEN, Y. P.; HSU, H. Y.; LEE, K. H.; TANI, S.; MCPHAIL, A. T. Bauhinin, a new nitrile glucoside from *Bauhinia championii*. **J. Nat. Prod.**, v. 48, p. 933 – 937, 1985.

CHENG, K.; LARNER, J. Intracellular mediators of insulin action. **Annu. Rev. Physiol.**, v. 47, p. 405 – 424, 1985.

CHENG, K.; THOMPSON, M.; SCHWARZ, C. **Multiple intracellular peptide mediators of insulin action**. In: Czech, M. P. (Ed.). *Molecular basis of insulin action*. New York: Plenum Press, p. 171 – 210, 1995.

CLEMENTS, R.S. JR, REYNERTSON, R. Myoinositol metabolism in diabetes mellitus. Effect of insulin treatment. **Diabetes**, v. 26, n.3, p.215-221, 1977.

COOPER, M. E.; RUMBLE, J.; KOMERS, R.; DU., H. C.; JANDELEIT, K.; CHOU, S. T. Diabetes associated mesenteric vascular hypertrophy is attenuated by angiotensin-converting enzyme inhibition. **Diabetes**, v. 43, p. 1221 – 1228, 1994.

CORMACK, H. D. **Ham - Histologia**. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 1, p. 3 – 9, 1991. 570 p.

CORRÊIA, A. D.; BATISTA, S.; QUINTAS, L. E. M. **Plantas medicinais – do cultivo à terapêutica**. 2ª ed. Petropolis: Editora Vozes, 1998.

COSTA, E.; FORTI, A.; FONTELES, M. C. Decreased endothelium dependent relaxation (nitric oxide) in diabetic kidneys. **Hormone and Metabolic Research**, v. 30, n. 1, p. 55 – 57, 1998.

COSTA, O. A. Estudo farmacodinâmico da unha-de-vaca – *Bauhinia forficata* Link. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 179 - 189, 1942.

COSTA, O. A. Estudo farmacodinâmico da unha-de-vaca. **Revista da Flora Medicinal**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 4, p. 175 – 189, 1945.

COWAN, R. S.; POLHILL, R. M. **Advances in legume systematics**. In: Polhill, M. R.; Raven, P. H. (Eds). Royal Botanic Kew Gardens, 1981.

CRONQUIST, A. **Na integrated system of classification of flowering plants**. New York: Columbia University Press, 1981. 1262 p.

CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, p. 485 - 486, 1979.

CRUZ, G. L. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. 3<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: Civilização Brasileira, 1985. 599 p.

DAMASCENO, D. C.; VOLPATO, G. T.; TRABALLI, A. L. M.; SILVA, C. F.; OLIVEIRA, M. Effect of *Bauhinia forficata* alcoholic extract on streptozotocin-induced diabetic rats In: XVI Latinamerican Congress of Pharmacology / II Iberoamerican Congress of Pharmacology. **Abstracts of XVI Latinamerican Congress of Pharmacology/ II Iberoamerican Congress of Pharmacology**, Campinas, Sociedade de Farmacologia, p. 203, 2000.

DAUGHADAY, W. H.; LARNER, J. The renal excretion of inositol in normal and diabetic human beings. **J. Clin. Invest.**, v. 33, p. 326 – 332, 1954.

DAUGHADAY, W. H.; LARNER, J.; HARTNETT, C. The synthesis of inositol in the immature rat and chick embryo. **J. Biol. Chem.**, v. 212, p. 869 – 875, 1955.

DAVIS, A.; CHRISTIANSEN, M.; HOROWITZ, J.F.; KLEIN, S.; HELLERSTEIN, M.K.; OSTLUND, R.E. Effect of pinitol treatment on insulin action in subjects with insulin resistance. **Diabetes Care**, v.23, p.1000-1005, 2000.

DEAN-JOHNSON, M.; HENRY, S. A. Biosynthesis of inositol in yeast. Primary structure of myo-inositol-1-phosphate synthase (EC5.5.1.74) and functional analysis of its structural gene, the IN01 locus. **J. Biol. Chem.**, v. 264, p. 1274 – 1283, 1989.

DURANTE, W.; SEN, A. K.; SUNAHARA, F. A. Impairment of endothelium-dependent relaxation in aortae from spontaneously diabetic rats. **Br. J. Pharmacol.**, v. 94, n. 2, p. 463 – 468, 1988.

DURET, S.; PARIS, R. R. Plants of Nepal. V. The flavonoids of various *Bauhinia*: *Bauhinia valhii* Wight et Arn., *B. variegata* Lindl., *B. malabarica* Roxb., *Luguminosae - Caesalpinia*. **Plant. Med. Phitother.**, v. 11, n. 3, p. 213 – 221, 1977.

ELIZABETZBY, E. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. In: Simões, C. M. O. (Organizador). 1<sup>a</sup> ed. Florianópolis: Editora da Universidade/ UFSC, 1999.

FERREIRA, M. A.; PRISTA, N.; ALVES, C. Chemical study of bark of *Bauhinia thonningii*. *Garcia Orta*, v.11, n. 1, p. 97 – 105, 1963.

FONSECA, A. M. C. S. **Considerações sobre a taxonomia do gênero *Bauhinia* L. Sect. *Tylotaea* Vogel (*Leguminosae-Caesalpinioideae*) do Brasil.** Rio de Janeiro: Curso de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1978.

FONTELES, M. C.; HUANG, L. C.; LARNER, J. Infusion of pH 2.0 D-chiro-inositol glycan insulin putative mediator normalizes plasma glucose in streptozotocin diabetic rats at a dose equivalent to insulin without inducing hypoglycemia. *Diabetologia*, v. 39, p. 731 – 734, 1996.

FONTELES, M.C.; GREENBERG, R.N.; MONTEIRO, H.S.; CURRIE, M.G.; FORTE, L.R. Natriuretic and kaliuretic activities of guanylin and uroguanylin in the isolated perfused rat kidney. *Am J. Physiol.* v.275(2 Pt 2), p.191-197, 1998.

FORTES, Z. B.; LEME, J. G.; SCIVOLETTO, R. Vascular reactivity in diabetes mellitus: role of the endothelial cells. *British Journal of Pharmacology*, v. 79, p. 771 – 781, 1983.

FORTUNATO, R. H. Revision del genero *Bauhinia* (*Cercideae, Caesalpinioidea, Fabaceae* para la Argentina). *Darviniana*, v.27, n. 1-4, p. 527 - 557, Diciembre, 1986, ISSN 0011-6793.

FRIEDWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of preparative ultracentrifugation. *Clinical Chemistry*, Baltimore, v.18, n.6, p. 499 – 502, 1972.

FURCHGOTT R. F.; ZAWADSKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, v.288, p. 373 – 376, 1980.

GONZALEZ-MUJICA, F. G.; MOTTA, N.; PERDOMO, E. M.; DEZ, J. Y.; HASEGAWA, M. Inhibición de la neoglucogénesis y de la glucosa-6-fosfatasa hepática por flavonas purificadas a partir de hojas de *Bauhinia megalandra*. *Rev. Latinoam. Qui.*, v. 28, p. 127 – 128, 2000.

GONZALEZ-MUJICA, F., MOTTA, N., MARQUEZ, A.H., CAPOTE-ZULUETA, J. Effects of *Bauhinia megalandra* aqueous leaf extract on intestinal glucose absorption and uptake by enterocyte brush border membrane vesicles. *Fitoterapia*, v.74, n.1-2, p.84-90, 2003.

GONZALEZ-MUJICA, F.; MOTTA, N.; BECERRA, A. Inhibition of hepatic neoglucogenesis and glucose-6-phosphatase by aqueous extract of *Bauhinia megalandra* leaves. *Phytotherapy Research*, v. 12, Issue 4, p.291 – 293, 1998.

GUPTA, A. K.; CHAUHAN, J. S. Constituents from the stem of *Bauhinia variegata*. *Natl. Acad. Sci. Lett.*, v. 7, n. 1, p. 15 – 16, 1984.

GUPTA, A. K.; KIDYPATI, T. J.; CHAUHAN, J. S. Chemical examination of stem of *Bauhinia variegata*. *Planta Med.*, v. 38, n. 2, p. 174 – 176, 1980.

GUPTA, M. P. **270 plantas medicinais iberoamericanas**. Santa Fé de Bogotá: Convênio Andres Bello, p. 347 – 348, 1995.

HALL, J. A.; GRADIN, J. L.; ANDREASEN, C. B.; WANDER, R. C. Use of a nonionic detergent (Triton WR 1339) in healthy cats to assess hepatic secretion of triglycerides. *Am. J. Vet. Res.*, v.61, p.941 – 950, 2000.

HANSEN, B.C. The metabolic syndrome X. *Ann N.Y. Acad Sci*, v.892, p.1-24. 1999

HATTORI, Y.; KAWASAKI, H.; ABE, K.; KANNO, M. Superoxide dismutase recovers altered endothelium-dependent relaxation in diabetic rat aorta. *American Journal of Physiology*, H 1086 – H 1094, 1991.

HERMANN J.; LERMAN A. The endothelium: Dysfunction and beyond. *J Nucl Cardiol*, v. 8, p. 197-206, 2001.

HODGE, H.C., STERNER, J.H. Tabulation Of Toxicity Classes. *Am. Ind. Hyg. Quart.*, v. 10, p. 93-96, 1949.

HOLDRIDGE, L. R.; Y POVEDEA, L. J. **Arboles de Costa Rica**. San José, Costa Rica: Centro Científico Tropical, 1975.

HUANG, L. C.; FONTELES, M. C.; HOUSTON, D. B.; ZHANG, C.; LARNER, J. Chiro-inositol deficiency and insulin resistance. III. Acute glycogenic and hypoglycemic effects of two inositol phosphoglycan insulin mediators in normal and streptozotocin diabetic rats in vivo. *Endocrinology*, v. 132, p. 652 – 657, 1993.

IRIBARREN, A. M., POMILIO, A. B. Sitosterol 3-O- $\alpha$ -D-xyluronofuranoside from *Bauhinia candicans*. *Phytochemistry*, v.26, n. 3, p. 857 – 866, 1987.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Components of *Bauhinia candicans*. *J. Nat. Prod.*, v. 46, n. 5, p. 752 – 753, 1983.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Sitosterol 3-O- $\alpha$ -D-riburonofuranoside from *Bauhinia candicans*. *Phytochemistry*, v. 24, n. 2, p. 360 – 361, 1985.

IRIBARREN, A. M.; POMILIO, A. B. Steroidal glycosides, flavonoids, and other components of *Bauhinia uruguayensis*. *An. Asoc. Quim. Argent.*, v. 77, n. 6, p. 461 – 466, 1989.

IVORRA, M. D.; PAYA, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.*, v. 27, p. 243 – 275, 1989.

JAYE, M., KRAWIEC, J. Endothelial lipase and HDL metabolism. *Curr Opin Lipidol.* v.15, n.2, p.183-189, 2004.

JOHNSTONE, M. T.; CREAGER, S. J.; SCALES, K. M.; CUSCO, J. A.; LEE, B. K.; CREAGER, M. A. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*, v. 88, 2510 – 2516, 1993.

JULIANE, C. The hypoglycemic action of unha de vaca. *Rev. Med. Pharm. Chim. Phys.* v. 2, n. 1, p. 165 – 169, 1929.

JULIANI, C. Ação hipoglicemiante de *Bauhinia forficata* Link. Novos estudos clínicos e experimentais. *Journal das Clínicas*, São Paulo, v. 22, p. 17, 1941.

KAMATA, K.; MIYATA, N.; KASUYA, Y. Impairment of endothelium-dependent relaxation and changes in levels of cyclic GMP in aorta from streptozotocin-induced diabetic rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 97, n. 2, p. 614 – 618, 1989.

KENNINGTON, A. S. **Insulin mediators and their inositol components**. Virginia, 1990. Ph. D. Thesis, University of Virginia.

KENNINGTON, A. S.; HILL, C. R.; CRAIG, J.; BOGARDUS, C.; RAZ, I.; ORTMAYER, H. K. HANSEN, B.C.; ROMERO, G.; LARNER, J. Low urinary chiro-inositol excretion in noinsulin-dependent diabetes mellitus. **N. Eng. J. Med.**, v. 323, p. 373 – 378, 1990.

KHANNA, P.; JAIN, S. C.; PANAGARIYA, A.; DIXIT, V. P. Hypoglycemic activity of polypeptide-p from a plant source. **J. Nat. Prod.**, v.44, n. 6, p. 648 – 655, 1981.

KING, H.; AUBERT, R.E.; HERMAN, W.H. Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes Care**, v. 21, n.9, p.1414-1431, 1998.

KOBAYASHI, K.; AMEMIYA, S.; MOCHIZUKI, M.; KOBAYASHI, K.; MATSUSHITA, K.; SAWANOBORI, E.; ISHIHARA, T.; HIGASHIDA, K.; SHIMURA, Y.; KATO, K.; NAKAZAWA, S. Association of Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism with Lipid Profiles in Children and Adolescents with Insulin-Dependent Diabetes mellitus. **Horm Res**, v. 51, p.:201-204, 1999.

KRAUS, J. E. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropedica, Rio de Janeiro : EDUR, 1997.

KULKARNI, R.N.; BRUNING, J.C.; WINNAY, J.N.; POSTIC, C.; MAGNUSON, M.A.; KAHN, C.R. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic beta cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. **Cell**, v.96, n.3, p.329-339, 1999a.

KULKARNI, R.N.; WINNAY, J.N.; DANIELS, M.; BRUNING, J.C.; FLIER, S.N.; HANAHAN, D.; KAHN, C.R. Altered function of insulin receptor substrate-1-deficient mouse islets and cultured beta-cell lines. **J Clin Invest.**, v.104, n.12, p.R69-75, 1999b.

KUMARI, K.; AUGUSTI, K. T. Antidiabetic effects of S-methylcysteine sulphoxide on alloxan diabetes. **Planta Med.**, v. 61, n. 1, p. 72 – 74, 1995.

KUPPURAJAN K, RAJAGOPALAN SS, RAO TK, SITARAMAN R. Effect of guggulu (Commiphora mukul--Engl.) on serum lipids in obese, hypercholesterolemic and hyperlipemic cases. **J Assoc Physicians India**. 1978 May;26(5):367-73.

LAHLOU, S.; INTERAMINENSE, L. F. L.; MAGALHÃES, P. J. C.; LEAL-CARDOSO, J. H.; DUARTE, G. P. Cardiovascular effects of eugenol, a phenolic compound present in many essential oils, in normotensive rats. **Journal Of Cardiovascular Pharmacology**, v. 43, n. 2, p.250 - 257, 2004.

LARNER, J.; PRICE, J.D.; HEIMARK, D.; SMITH, L.; RULE, G.; PICCARIELLO, T.; FONTELES, M.C.; PONTES, C.; VALE, D.; HUANG, L. Isolation; structure; synthesis; and bioactivity of a novel putative insulin mediator. A galactosamine chiro-inositol pseudo-disaccharide Mn<sup>2+</sup> chelate with insulin-like activity. **J Med Chem.**, v.46, n.15, p.3283-3291, 2003.

LARNER, J. D-chiro-inositol – its functional role in insulin anction and its deficit in insulin resistance. **Experimental Diab. Res.**, v. 3, p. 47 – 60, 2002.

LARNER, J. D-chiro-inositol in insulin action and insulin resistance. Old fashioned biochemistry still at work. **IUBMB Life**, v. 51, p. 139 – 148, 2001.

LARNER, J.; CRAIG, J. W. Urinary myo–inositol–to–chiro–inositol ratios and insulin resistance. **Diabetes Care**, v. 19, n. 1, p. 76 – 78, 1996.

LARNER, J.; HUANG, L. C.; BROOKER, G.; MURAD, F.; MILLE, T. B. Inhibitor of protein kinase found in insulin treated muscle. **Fed. Proc.**, v. 33, p. 261, 1974.

LARNER, J.; HUANG, L. C.; SCHWARTZ, C. E. W.; OSWALD, A. S.; SHEN, T. Y.; KINTER, M.; TANG, G.; ZELLER, K. Rat liver insulin mediator which stimulates pyruvate dehydrogenase phosphatase contais galactosamine and D–chiro–inositol. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 151, p. 1416 – 1426, 1988.

- LARNER, J.; HUANG, L.C. Identification of a novel inositol glycan signaling pathway with significant therapeutic relevance to insulin resistance: an insulin signaling model using both tyrosine kinase and G-proteins. **Diabetes Review**, v.3, p.217-229, 1999.
- LASH, J. M.; BOHLEN, H. G. Structural and functional origins of suppressed acetylcholine vasodilation in diabetic rat intestinal arterioles. **Circulation Research**, v. 69, p. 1259 – 1268, 1991.
- LAUX, D. O.; STEFANI, G. M.; GOTTIEB, O. R. The chemistry of *Brazilian Leguminosae*. Part 62. Blausplendin, A dimethylenedioxyflavone from *Bauhinia splendens*. **Phytochemistry**, v. 24, n. 5, p. 1081 – 1084, 1985.
- LEMUS, I.; GARCIA, R.; DELVILLAR, E.; KNOP, G. Hypoglycaemic activity of four plants used in Chilean popular medicine. **Phytotherapy Research**, v. 13, n. 2, p. 91 – 94, 1999.
- LEWIS, G. P. **Legumes of Bahia**. Royal Botanic Kew Gardens, 1987. 369 p.
- LIBBY P. Metformin and vascular protection: a cardiologist's view. **Diabetes Metab.**, v.29(4 Pt 2):6S, p.117-120, 2003.
- LINNAEUS, C. **Species plantarum**. Londres: Roy Sociely, v. 1, p. 148, 1959.
- LINO, C. S.; DIOGENES, J.; PEREIRA, B. A.; FARIA, R. A. P. G.; ANDRADE NÉTO, M.; SOUSA, F. C. F.; VIANA, G. S. B. Avaliação da atividade analgésica e antiedema de *Bauhinia forficata*. In: XVII Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. **Anais do XVII da SBPM**, Cuiabá, 2002.
- LORENZI, H. **Árvores do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo: Plantarum, v. 1, p. 143, 1992.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. Nova Odessa, São Paulo: Plantarum, 1982. 252 p.
- LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas mediciniais no Brasil nativas e exóticas**. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2002.

LÜDMER, P. L.; SELWYN, A. P.; SHOOK, T. L.; WAYNE, R. R.; MUDGE, G. H.; ALEXANDER, R. W.; GANZ, P. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *New England Journal of Medicine*, v. 315, n. 17, p.1046 – 1051, 1986.

LUNDQUIST, I.; RERUP, C. On the development of alloxan diabetes in mice. *Eur. J. Pharmacol.*, v. 2, n. 1, p. 35 – 41, 1967.

LUZ, M. S.; SANTOS, C. A. M.; SATO, M. E. O. Abordagem fitoquímica e farmacológica da tintura de *Bauhinia forficata* Link., *Leguminosae* In: XVI Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. *Anais do XVII da SBPM*, Florianópolis, 1996.

MAILLARD, M. P.; RECIO-IGLESIAS, M. C.; SAADOU, M.; STOECKLI-EVANS, H. Novel antifungal tetracyclic compounds from *Bauhinia rufescens* Lam. *Helv. Chim. Acta*, v. 74, n. 4, p. 791 – 799, 1991.

MALCHOFF, C. D.; HUANG, L.; GILLESPIE, N.; PALASI, C. V.; SCHWARTZ, C. F.; CHENG, K.; HEWLETT, E. L.; LARNER, J. A putative mediator of insulin action which inhibits adenylate cyclase and adenosine 3', 5'-monophosphate-dependent protein kinase: partial purification from rat liver: site and kinetic mechanism of action. *Endocrinology*, v. 120, p. 1327 – 1337, 1987.

MALONE, M. H.; ROBICHAUD, R. C. A hippocratic *screen* for pure or crude materials. *Lloydia*, v. 25, p. 320 – 332, 1962.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. *Phytomedicine*, v. 2, p. 137 – 189, 1995.

MARTIUS, C. F. P.; EICHTER, A. G.; URBAN, L. *Flora brasiliensis*. Mönaco: v. 9, p. 1840 – 1892, 1870.

MASÍS, A.; ESPINOZA, R.; GUADAMUZ, A.; PEREZ, D. Y.; CHAVARRÍA, F. *Species page de Bauhinia unguolata (Fabaceae/ Caesalpinioideae)*. Costa Rica: Species Home Pages, Area de Conservación Guanacaste, 1998. <http://www.acguanacaste.ac.cr>.

MATO, J. M.; KELLY, K. L.; ABLER, A.; JARETT, L. Identification of a novel insulin-sensitive glycopospholipid from H35 hepatoma cells. **J. Biol. Chem.**, v. 262, p. 2131 – 2137, 1987.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas – Sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** 3ª ed. Fortaleza: UFC Edições, v.1. p.220, 1998.

MATOS, F. J. A. **Farmácias Vivas: sistema de utilização de plantas medicinais projetado para pequenas comunidades.** Fortaleza : Editora UFC, v.1. p.267, 2002

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental.** Fortaleza: Edições UFC, 1988.

MATOS, F. J. A. **Plantas Mediciniais: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil.** 2ª ed. Fortaleza: IU, 2000, 346 p.

MINTO, A. B. M.; PEREIRA, N. A. Evaluation of hypoglycemic effect of *Bauhinia monandra* Kurz (Pata de vaca) In: XVI Latinamerican Congress of Pharmacology. **Anais do XVI Latinamerican Congress of Pharmacology**, Águas de Lindóia, 2000.

MIRSKY, I. A.; DIENGOTT, D.; PERISUTTI, G. The hypoglycaemic and insulinase-inhibitory action of some plant growth regulators. **Endocrinology**, v. 59, p. 715, 1956.

MORAIS, K. B. M.; ANDRADE, M. M. F. Acompanhamento clínico do uso da tintura das folhas de Mororó a 20% (*Bauhinia unguolata*) em diabéticos. Secretaria de saúde do município de Maracanaú. In: XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil. **Resumos do XIV Simpósio de Plantas Mediciniais do Brasil**, Florianópolis, F – 218, p. 137, 1996.

MORRISON, A. E. Y.; WEST, M. A preliminary study of the effects of some West Indian medicinal plants on blood sugar levels in the dog. **West Indies Med. J.**, v. 31, p. 194 – 197, 1982.

MORS, W.B.; RIZZINI C. T.; PEREIRA, N. A. **Medicinal plants of Brazil.** Edited by Robert A. DeFilipps, 2000. 501 p.

MOSSA, J. S.; TARIQ, M. Pharmacological studies on aerial parts of *Calotropis procera*. *Am. J. Chin. Med.*, v. 19, n. 3 – 4, p. 223 – 231, 1991.

MUKHERJEE, B.; SARKAR, A.; KULKUARNI, S. Hypolipidemic activity of *Catharanthus roseus* leaf extract in mice. *Fitoterapia*, v. 66, n.6, p. 403 – 407, 1995.

MUÑOZ, V.; SAUVAIN, M.; BOURDY, G.; CALLAPA, J.; BERGERON, S.; ROJAS, I.; BRAVO, J.A.; BALDERRAMA, L.; ORTIZ, B.; GIMENEZ, A.; DEHARO, E. A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach Part I. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Chacobo Indians. *Journal of Ethnopharmacol.*, v. 69, p. 127 – 137, 2000.

NARALIEV, I.U.N., AVEZOV, G.A. [The efficacy of quercetin in alloxan diabetes] *Eksp Klin Farmakol*, v.55, n.1, p.42-44, 1992.

NARAYANAN, C., Pinitol—A new anti-diabetic compound from the leaves of *Bougainvillea*. *Current Science*, v.56, n.3, p.139-141, 1987.

NASCIMENTO NR, COSTA-E-FORTI A, PETER AA, FONTELES MC. Free radical scavengers improve the impaired endothelium-dependent responses in aorta and kidneys of diabetic rabbits. *Diabetes Res Clin Pract.*, v.61, n.3, p.145-153, 2003.

NEAME, P. B.; PILLAY, V. K. Spontaneous hypoglycaemia, hepatic and renal necrosis following the intake of herbal medicines. *South African Méd. J.*, v. 38, p. 729 – 732, 1964.

NESTLER, J.E.; JAKUBOWICZ, D.J.; REAMER, P.; GUNN, R.D.; ALLAN, G. Ovulatory and metabolic effects of D-chiro-inositol in the polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.*, v.340, n.17, p.1314-1320, 1999.

OKWUTE, S. K.; NDUKWE, G. I.; WATANABE, N. Isolation of griffonilide from the stem bark of *Bauhinia thonningii*. *J. Nat. Prod.*, v. 49, n. 4, p. 716 – 717, 1986.

OLIVA, M. L.; MENDES, C. R.; JULIANO, M. A.; CHAGAS, J. R.; ROSA, J. C.; GREENE, L. J.; SAMPAIO, M. U.; SAMPAIO, C. A. Characterization of a tissue kallikrein inhibitor isolated from *Bauhinia bauhinioides* seeds: inhibition of the hydrolysis of kininogen related substrates. *Immunopharmacology*, v. 45, n. 1 – 3, p. 163 – 169, 1999.

OLIVEIRA, A.; ATAÍDE, J.; PENA, F.; LAMARÃO, C.; CHAGAS, B. **Controle do diabetes com plantas medicinais – uma alternativa de saúde pública**. Macapá-Amapá: Instituto de Pesquisas Científicas do Estado do Amapá – IEPA, Governo do estado do Amapá, 1998. 22 p.

OLIVEIRA, F.; KATO, E. T. M.; RODRIGUES, R. F. O.; BASSO, S. L. Myths and truths about pata-de-vaca - *Bauhinia forficata* Link – Review. **Revista Lecta - Revista de Farmácia e Biologia da Universidade São Francisco**, v. 19, n. 1 - 2, 2001.

OLIVEIRA, F.; SAITO, M. L. Alguns vegetais brasileiros empregados no tratamento da diabetes. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v.1, n.1, p. 170 – 173, 1986.

ONG KC, KHOO HE. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. **Life Sci.**, v. 67, n.14, p.1695-1705, 2000.

ORTMEYER, H. K.; BODKIN, N. L.; LILLEY, K.; LARNER, J.; HANSEN, B. C. Chiro-inositol deficiency and insulin resistance. I. Urinary excretion rate of chiro-inositol is directly associated with insulin resistance in spontaneously diabetic rhesus monkeys. **Endocrinology**, v. 132, p. 640 – 645, 1993.

ORTMEYER, H. K.; HUANG, L. C.; ZHANG, L.; HANSEN, B. C.; LARNER, J. Chiro-inositol deficiency and insulin resistance. II. Acute effects of D-chiro-inositol administration in streptozotocin-diabetic rats, normal rats given a glucose load, and spontaneously insulin-resistant rhesus monkeys. **Endocrinology**, v. 132, p. 646 – 651, 1993.

PAK, Y.; PAULE, C. R.; BAO, Y. D.; HUANG, L. C.; LARNER, J. Insulin stimulates biosynthesis of chiro-inositol-containing phospholipids in a rat fibroblast line expressing the human insulin receptor. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v. 90, p. 7759 – 7763, 1993.

PALOSSY B, GOTH M. Clinical observations with glybenclamide (Gilemal). **Ther Hung.**, v.25(4), p.162-165, 1977.

PANDA, S.; KAR, A. *Withania somnifera* and *Bauhinia purpurea* in the regulation of circulating thyroid hormone concentrations in female mice. *J. Ethnopharmacol.*, v. 67, n. 2, p. 233 – 239, 1999.

PEPATO, M. T.; KELLER, E. H.; BAVIERA, A. M.; KETTELHUT, I. C.; VENDRAMINI, R. C.; BRUNETTI, I. L. Anti-diabetic activity of *Bauhinia forficata* decoction in streptozotocin-diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, v. 81, n. 2, p.191 – 197, 2002.

PEPATO, M. T.; KELLER, E. H.; BAVIERA, A. M.; SILVA, M. M. P.; VENDRAMINI, R. C.; BRUNETTI, I. L. Efeito do decocto de *Bauhinia forficata* (Pata de Vaca) sobre o diabetes experimental In: XIII Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental - FeSBE. *Anais da XIII Reunião Anual da FeSBE*, Caxambu, p. 391 – 391, 1998.

PEREIRA, H. **Pequena contribuição para o dicionário de plantas úteis do Estado de São Paulo (indígenas e aclimadas)**. São Paulo: Rothschild & Co., 1929. 74 p.

PIO CORREA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas exóticas cultivadas**. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional IBDF, v. 5, 1984. 237 p.

PIO CORREIA, M. **Dicionário de plantas úteis do Brasil**. Brasília: Edição Ministério da Agricultura, v. 2, p. 295, 1984.

PIZZA, C.; TOMMASI, N.; BRACA, A.; DI BARI, L.; POLITI, M.; MORELLI, L. Antioxidant principles from *Bauhinia tarapotensis*. *J. Nat. Prod.*, v. 64, p. 892 – 895, 2001.

PIZZOLATTI, M.G.; GERALDO, M.; CUNHA J.R.A.; SZPOGANICZ, B.; SOUSA, E.; BRAZ-FILHO, R.; JAN SCHRIPSEMA, J. Flavonóides glicosilados das folhas e flores de *Bauhinia forficata* (Leguminosae). *Quím. Nova*, v.26, n. 4, 2003.

RABATÉ, J.; GOURÉVITCH, A. A. L-tartaric acid in the leaves and fruit of *Bauhinia reticulata*. *Compt. Rend.*, v. 206, p. 1754 – 1756, 1938.

RAHMAN, W.; BEGUM, S. J. Flower pigments: flavonoids from the white flowers of *Bahinia variegata*. *Naturwissenschaften*, v. 53, n. 15, p. 385, 1966.

RAMACHANDRA, R.; VISWANADHAM, N. Coloring matter of the flower of *Bauhinia tomentosa*. **Proc. Indian. Acad. Sci.**, 39 A, p. 240 – 242, 1954.

RAMACHANDRAN, R.; JOSHI, B. C. Chemical examination of *Bauhinia purpurea* flowers. **Curr. Sci.**, v. 36, n. 21, p. 576 – 585, 1967.

RAMOS, R. R.; AGUILAR, F. A.; LEMUS, A. L.; SAENZ, J. L. F. Hypoglycemic activity of some antidiabetic plants. **Arch. Med. Res.**, v. 23, n. 59, p. 105–109, 1992.

REDDY, M. V.; REDDY, M. K.; GUNASEKAR, D.; CAUX, C.; BODO, B. A flavanone and a dihydrodibenzoxepin from *Bauhinia variegata*. **Phytochemistry**, v. 64, n. 4, p. 879 – 882, 2003.

RERUP, C.; TARDING, F. Streptozotocin and alloxan-diabetes in mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v. 7, n. 1, p. 89 – 96, 1969.

ROBBERS, J. **Tyler's herbs of choice: the therapeutic use of phytomedicinals**. 2<sup>a</sup> ed. Haworth Herbal Press, (1999).

RODRIGUEZ-MAÑAS, L.; ANGULO, J.; PEIRO, C.; LIERGO, J. L.; SANCHEZ-FERRER, A.; LOPEZ-DORIGA, P.; SANCHEZ-FERRER, C. F. Endothelial dysfunction and metabolic control in streptozotocin-induced diabetic rats. **Br. J. Pharmacol**, v. 123, p. 1495 – 1502, 1998.

ROMAN-RAMOS, R.; AGUIAR, F. A.; LEMUS, A. L.; SUENZ, J. L. F. Hypoglycemic effect of plants used in Mexico as antidiabetics. **Archives of Medical Research**, v. 23, n. 1, p. 59 – 64, 1992.

ROMAN-RAMOS, R.; FLORES-SAENZ, J. L.; ALARCON-AGUILAR, F. J. A. anti-hyperglycemic effect of some edible plants. **J. Ethnopharmacol.**, v. 48, n. 1, p. 25 – 32, 1995.

RUMBLE, J. R.; COOPER, M. E.; SOULIS, T.; COX, A.; WU, L.; YOUSSEF, S.; JASIK, M.; JERUMS, G.; GILBERT, R. E. Vascular hypertrophy in experimental diabetes: role of advanced glycation end products. **J. Clin. Invest.**, v. 99, p. 1016 – 1027, 1997.

RUSSO, E. M.; REICHEL, A. A.; AS, J. R.; FURLANETTO, R. P.; MOISES, R. C.; KASAMATSU, T. S.; CHACRA, A. R. Clinical trial of *Myrcia uniflora* and *Bauhinia forficata* leaf extracts in normal and diabetic patients. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 23, n. 1, p. 11 – 20, 1990.

SALTIEL A. R.; CUATRECASAS, P. Insulin stimulates the generation from hepatic plasma membranes of modulators derived from an inositol glycolipid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, v. 83, p. 5793 – 5797, 1986.

SALTIEL AR, KAHN CR. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, v. 414, n.6865, p.799 – 806, 2001.

SALTIEL, A. R. Insulin generates an enzyme modular from hepatic plasma membranes: regulation of adenosine 3', 5'-monophosphate phosphodiesterase, pyruvate dehydrogenase, and adenylate cyclase. *Endocrinology*, v. 120, p. 967 – 972, 1987.

SALTIEL, A. R.; FOX, J. A.; SHERLINE, P.; CUATRECASAS, P. Insulin-stimulated hydrolysis of a novel glycolipid generates modulators of cAMP phosphodiesterase. *Science*, v. 233, p. 967 – 972, 1986.

SANNOMIYA, P.; OLIVEIRA, M.A.; FORTES, Z.B. Aminoguanidine and the prevention of leukocyte dysfunction in diabetes mellitus: a direct vital microscopic study. *British Journal of Pharmacology*, v.122, p.894-898, 1997.

SAVI, A. O. S.; BREVIGLIERI, E.; CRUZ, A. B.; YUNES, R. A.; CECHINEL FILHO, V. Antibacterial activity of *Bauhinia splendens* Leaves. *Revista Biologia Tropical*, Costa Rica, v. 45, n. 1, p.601 – 603, \1997.

SCHMATZ, D. M.; ARISON, B. H.; DASHKEVICZ, M. P.; LIESCH, J. M.; TURNER, M. J. Identification and possible role of D-mannitol and 2-0-methyl-chiro-inositol (quebrachitol) in *Eimeria tenella*. *Molec. and Biochem. Parasitol.*, v. 29, p. 29 – 36, 1988.

SETTER SM, ILTZ JL, THAMS J, CAMPBELL RK. Metformin hydrochloride in the treatment of type 2 diabetes mellitus: a clinical review with a focus on dual therapy. *Clin Ther.*, v.25, n.12, p.2991-3026, 2003.

SHAHAR E, CHAMBLESS LE, ROSAMOND WD, BOLAND LL, BALLANTYNE CM, MCGOVERN PG, SHARRETT AR. Plasma lipid profile and incident ischemic stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Stroke*. v.34, n.3, p.623-631, 2003.

- SHANI, J.; GOLDSCHMIED, A.; JOSEPH, B.; AHRONSON, Z.; SULMAN, G. Hypoglycaemic effect of *Trigonella foenum graecum* and *Lupinus termis* (*Leguminosae*) seeds and their major alkaloids in alloxan-diabetic and normal rats. *Arch. Intern. Pharmacodyn.*, v. 210, p. 27 – 37, 1974.
- SILVA, C. M.; YUNES, R. A.; MONACHE, F. D.; SANTOS, A. R. S.; SCHMELING, L. O.; GADOTTI, V. M.; LIZ, F.; CECHINEL FILHO, V. Phytochemical and pharmacological analysis of *Bauhinia microstachya* (Raddi) Macbr. (*Leguminosae*). *Zeitschrift fur naturforschung C – A. Journal of Biosciences, Alemanha*, v.56, p.939 – 942, 2001.
- SILVA, F. R.; SZPOGANICZ, B.; PIZZOLATTI, M. G.; WILLRICH, M. A.; DE SOUSA, E. Acute effect of *Bauhinia forficata* on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 83, n. 1 – 2, p.33 – 37, 2002.
- SILVA, K. L. **Estudo fitoquímico das diferentes partes da *Bauhinia forficata* Link (*Leguminosae*)**. Itajaí/ Santa Catarina, 1999. Monografia de Conclusão de Curso (Curso de Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Núcleo de Investigações Químico-Farmacêuticas, Universidade do Vale do Itajaí.
- SILVA, K. L.; BIAVATTI, M. W.; LEITE, S. N.; YUNES, R. A.; DELLE MONACHE, F.; CECHINEL FILHO, V. V. Phytochemical and pharmacognosic investigation of *Bauhinia forficata* Link (*Leguminosae*). *Z. Naturforsch.*, v. 55, n. 5 – 6, p. 478 – 480, 2000.
- SILVA, K. L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Química nova*, v.25, p. 449 – 454, 2002.
- SILVA, R. M. Estudo dos efeitos da *trans*-desidrocrotonina, um diterpeno 19-nor-clerodano do *Croton cajucara* Benth. em hiperlipidemia de hipertrigliceremia experimental. Fortaleza, 2000. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará. 92 p.
- SILVESTRE, J.A. Hospitalizações SUS 1997. Coordenadoria da Atenção à Saúde do Idoso. Ministério da Saúde.

SOUSA LINO, C.; LUZ DIOGENES, J.P.; PEREIRA, B.A.; FARIA, R.A.P.G.; NETO, M.A.; ALVES, R.S.; DE QUEIROZ, M.G.; DE SOUSA, C.F.; VIANA, G.S. Antidiabetic activity of *Bauhinia forficata* extracts in alloxan-diabetic rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v. 27, n.1, p. 125-127, 2004.

SOUZA, R. S. S.; SANTOS, D. R.; BELLA CRUZ, A.; CRUZ, R. C. B. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos e frações das plantas *Bauhinia forficata*, *Bauhinia microrhachya*, *Calophyllum brasiliense*, *Epidendrum mosenii*, *Piper mikoniamum*, *Protium klenii* e *Rubus imperialis* In: VI Seminário Integrado de Iniciação Científica da UNIVALI. **Resumos do VI Seminário Integrado de Iniciação Científica da UNIVALI**, Balneário Camburiú, p. 265, 2000.

SPICHLER ERS; SPICHLER ES; SPICHLER, D., MARTINS, C.S.F., FRANCO, L.J.; LESSA, I. Diabetic Lower Extremities Amputation - Rio de Janeiro, BR. 1990-1996. **Diabetologia**, v.41, n. A 279, p. 90-6, 1998.

SUN, T.; HEIMARK, D.B.; NGUYEN, T.; NADLER, J.L. LARNER, J. Myo-inositol to chiro-inositol epimerase activities and chiro-inositol to myo-inositol ratios are decreased in tissues of GK type 2 diabetic rats compared to Wistar controls. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.293, p.1092-1098; 2002.

SUZUKI, S.; TANEDA, Y.; HIRAI, S.; ABE, S.; SASAKI, A.; SUZUKI, K.; TOYOTA, T. **Molecular mechanism of insulin resistance in spontaneous diabetic GK (Goto – Kakizaki) rats**. In: *New Directions in Research and Clinical Works for Obesity and Diabetes Mellitus*. Angel. A.; Hotta, H. (Eds.). Elsevier, p. 197 – 203, 1991.

SUZUKI, S.; TOYOTA, T.; TAMURA, S.; KIKUCHI, K.; TSUIKI, S.; HUANG, L.; VILLAR-PALASI, C.; LARNER, J.; GOTO, Y. ATP –  $Mn^{2+}$  stimulates the generation of a putative mediator of insulin action. **J. Biol. Chem.**, v. 262, p. 3199 – 3204, 1987.

TANG, X.; YUAN, C.; ZHANG, Z.; ZHOU, M. Chemical constituents of *Bauhinia hupehara* Craib **Zhongguo Zhongyao Zazhi**, v. 17, n. 10, p. 613 – 615, 1992.

- TAYLOR, P. D.; MCCARTHY, A. L.; THOMAS, C. R.; POSTON, L. Endothelium-dependent relaxation and noradrenaline sensitivity in mesenteric resistance arteries of streptozotocin-induced diabetic rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 107, p. 393 – 399, 1992.
- TAYLOR, R. S.; HUDSON, J. B.; MANANDHAR, N. P.; TOWERS, G. H. Antiviral activities of medicinal plants of southern Nepal. **J. Ethnopharmacol.**, v. 53, n. 2, p. 97 – 104, 1996.
- TESFAMARIAM, B.; COHEN, R.A. Free radicals mediate endothelial cell dysfunction caused by elevated glucose. **Am. J. Physiol.**, v.263, p.H321-H326, 1992.
- TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia, herbarium**. 3 ed. Curitiba: Herbárium Laboratório Botânico, 1995. 229 p.
- THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of *Diabetes Mellitus*. **Diabetes Care**, v.20, p.1183, 1997.
- TIESTZ, N. W. **Fundamentals of clinical chemistry**. Philadelphia: W. B. Sanders CO. 1970.
- TIWARI, K. P.; MASSOD, M.; RATHORE, Y. K.; SINGH, P.K. Anthocyanins from the flower of some medicinal plants. **Vijanana Parishad Anusandhan Patrika**, v. 21, n. 2, p. 271 – 278, 1978.
- TONKS, D.B. **Quality control in clinical laboratories, diagnostis reagents**. Ontario: Division. 1970.
- TSI, D.; DAS, N. P.; TAN, B. K. Effects of aqueous celery (*Apium graveolens*) extract on lipid parameters of rats fed a high fat diet. **Planta Med.**, v. 61, p.18 – 21, 1995.
- VAZ, A.M.S.F.; TOZZI, A.M.G.A. *Bauhinia ser. Cansenia* (Leguminosae: Caesalpinioideae) no Brasil, **Rodriguésia**, v. 54, n. 83, p. 55 – 143, 2003.

VIANA, E. P.; SANTA-ROSA, R. S.; ALMEIDA, S. S. M. S.; SANTOS, L. S. Constituents of the stem bark of *Bauhinia guianensis*. **Fitoterapia**, v. 70, p. 111 – 112, 1999.

VIJAYAKUMARI, K. P.; SIDDHURAJU, K.; IHANAN, K. J. Chemical composition, amino acid content and protein quality of the little-known legume *Bauhinia purpurea* L. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Seed Physiol. Biochem. Lab., Dep. Bot., Bharathiar Univ., Coimbatore 641 046, Tamil Nadu, v. 73, n. 3, p. 279 – 286, 1997.

WAHAB, S. M.; WASSEL, G. M.; AMMAR, N. M.; HANNA, T. Flavonoid constituents in the different organs of selected *Bauhinia* species and their effect on blood glucose.. **Herba Hung**, v. 26, n. 1, p. 27 – 39, 1987.

WAHL, H. G.; GRENER, B.; WERNER, R.; SCHMUELLING, R. M. Urinary myo-/chiro-inositol ratio is increased in NIDDM patients and in non-diabetic first degree relatives. **Diabetes**, v. 47, A429 (Abstract), 1998.

WANG, H. X. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antiatherosclerotic and antithrombotic activities. **Life Sciences**, v. 65, p. 2663 – 2677, 1999.

WANG, H. X.; RONDU, F.; LAMOURI, A.; DOKHAN, R.; MARC, S.; TOUBOUL, E.; PFEIFFER, B.; MANECHEZ, D.; RENARD, P.; GUARDIOLA-LEMAITRE, B.; GODFROID, J. J.; KTORZA, A.; PENICAUD, L. Effect of S-21663 (PMS 812), an imidazoline derivative, on glucose tolerance and insulin secretion in a rat model of type II diabetes. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, v. 278, n. 1, p. 82 – 89, 1996.

WAZLAWIK, E.; SILVA, M.A.; PETERS, R.R.; SIMÕES, C.M.O.; DO VALE, R.M.R. Avaliação do efeito antidiabetogênico do extrato bruto hidroalcoólico de *Bauhinia variegata* (Pata de vaca) em ratos. In: IX Reunião Anual da FeSBE. **Resumos da IX Reunião Anual da FeSBE**, Caxambú, 1994.

WILLAIN FILHO, A.; BREVIGLIERI, E.; CECHINEL FILHO, V.; SANTOS, A. R. S. Antinociceptive effect of the hydroalcoholic extract of *Bauhinia splendens* Stems. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, EUA, v. 49, n. 8, p. 823 – 827, 1997.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis and classification of *diabetes mellitus* and its complications. report of a WHO consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. 1999.

WUNDERLIN, R.; LARSEN, K.; LARSEN, S.S. *Cercideae*: advances in legume systematics. In: Polhill, R. M.; Raven, P. H. (Eds). *Royal Botanic Kew Gardens*, part 1, p. 107 - 116, 1981.

YADAVA, R. N.; REDDY, V. M. Anti-inflammatory activity of a novel flavonol glycoside from the *Bauhinia variegata* Linn. *Nat. Prod. Res.*, v. 17, n. 3, p. 165 - 169, 2003.

YADAVA, R. N.; TRIPATHI, P. A novel flavone glycoside from the stem of *Bauhinia purpurea*. *Fitoterapia*, v. 71, n. 1, p. 88 - 90, 2000.

YOSHINO, Y.; TAKEDA, N.; SUGIMOTO, M.; NAKASHIMA, K.; OKUMURA, S.; HATTORI, J.; SASAKI, A.; KAWACHI, S.; TAKAMI, K.; TAKAMI, R.; YASUDA, K. Differential effects of troglitazone and D-chiro-inositol and glucosamine-induced insulin resistance in rats. *Metabolism*, v. 48, p. 1418 - 1423, 1999.

ZANINI, A. C.; OGA, S. *Guia de medicamentos (uso racional de medicamentos)*. Rio de Janeiro: Atheneu, 1995. 786 p.

ZARZUELO A, JIMENEZ I, GAMEZ MJ, UTRILLA P, FERNADEZ I, TORRES MI, OSUNA I. Effects of luteolin 5-O-beta-rutinõside in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci.*, v. 58, n.25, p.2311-2316, 1996.

ZIMMET, P.; ALBERTI, K. G.; SHAW, J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*, v. 414, p. 782 - 787, 2001.