

ANA CARDOSO CLEMENTE FILHA

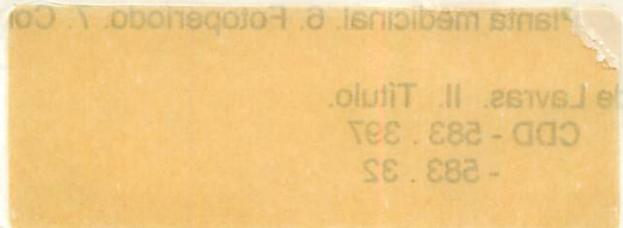


**ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DE *Bauhinia forficata* Link
e *Plantago major* L.**

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, para obtenção do título de "Mestre"

Orientador

Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga



**LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1996**

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA

Clemente Filha, Ana Cardoso

Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forficata* Link e *Plantago
major* L. / Ana Cardoso Clemente Filha. -- Lavras : UFLA, 1996.

67p. : il.

Orientador: Amauri Alves de Alvarenga.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Pato de vaca - *Bauhinia forficata*. 2. Tanchagem - *Plantago*. 3. Fito-
química. 4. Germinação. 5. Planta medicinal. 6. Fotoperíodo. 7. Composto
secundário.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 583 . 397

- 583 . 32

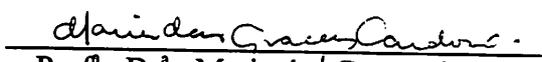
ANA CARDOSO CLEMENTE FILHA

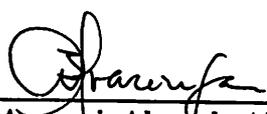
ASPECTOS FISIOLÓGICOS E FITOQUÍMICOS DE *Bauhinia forficata* Link e *Plantago major* L.

Dissertação apresentada a Universidade Federal de Lavras,
como parte das exigências do Curso de Mestrado em
Agronomia, área de concentração Fisiologia Vegetal, para
obtenção do título de "Mestre"

APROVADA em 29 de fevereiro de 1996


Dr^a . Cecília Terumi Teradaira Blatt


Prof^a . Dr^a . Maria das Graças Cardoso


Prof. Dr. Amauri Alves de Alvarenga
(Orientador)

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

[REDACTED]

Viver é incoerência

Incoerência é matar

Eloquência é não gritar

E em silêncio morrer.

A Deus

Aos meus pais Aristides e Ana

**A Isabel, Alex, Lourdes, Carlinhos, Ana Cláudia, Carla, Alynne, Fefê, Dita,
Tia DuReis, Maria, Geraldo, Anderson, Aristides, Alexandre, Cassiel, Marcinha
Rael, Mini, Eliane e Marquinho**

OFEREÇO

Ao Gabriel

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

Aos meus pais e irmãos pelo constante apoio, união e amor.

Ao professor Amauri Alves de Alvarenga pela orientação e amizade durante todo o curso.

À pesquisadora Ângela Maria Ladeira pela coorientação e amizade.

Às pesquisadoras Cecília Terumi Teradaira Batt e Maria Cláudia Marx Young, pela amizade e apoio incondicional na realização de experimentos.

À professora Maria das Graças Cardoso pela sugestões apresentadas no desfecho do trabalho.

À Gidelma, Josi, Solange, Lucivane, Moemy, Marly, Lúcio, Douglas, Zé Eduardo, Ilka, Jefferson, Laura, Paulino, Renata, Luciano, Walter, Evaristo, Márcia, Leo, Patrícia, Giovana e todos amigos da Universidade Federal de Lavras.

Aos colegas do Curso de Pós Graduação pela convivência.

Aos amigos do Instituto de Botânica de São Paulo Suzana, Lili, Marilene, Cordeirinho, Su, Cris, Rose, Ângela, Antônio, Célio, Paulo, D. Helena, Mari, Sr. Tibúrcio, Cida, D. Amélia, Shirley, Cândida, Nair, Cecília, Rose, Paulo, Carlos, Patrícia, Marcos, Diógenes.

À Universidade Federal de Lavras - UFLA, especialmente ao Departamento de Biologia pela possibilidade de realização do curso.

Ao Instituto de Botânica de São Paulo, especialmente a Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, pela possibilidade de realização de parte experimental.

Aos professores do curso de Fisiologia Vegetal pelos conhecimentos transmitidos.

Aos pesquisadores da Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas do Instituto de Botânica de São Paulo pela convivência amistosa e pelos conhecimentos adquiridos.

A CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	página
LISTA DE TABELAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
SUMMARY.....	xii
INTRODUÇÃO.....	1
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	4
2.1 GERMINAÇÃO.....	4
2.2. FITOQUÍMICA.....	8
2.2.1. <i>Bauhinia</i>	8
2.2.2 <i>Plantago</i>	10
2.2.3 COMPOSTOS SECUNDÁRIOS.....	11
2.2.3.1 COMPOSTOS FENÓLICOS.....	14
2.2.3.2 ALCALÓIDES.....	19
2.2.3.3 MUCILAGENS.....	20

3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 ESPÉCIES ESTUDADAS.....	22
3.2 GERMINAÇÃO.....	24
3.3 EFEITO DA IDADE DA PLANTA E DO FOTOPERÍODO NO ACÚMULO DE METABÓLITOS SECUNDÁRIOS.....	25
3.4 ANÁLISE FITOQUÍMICA EM FOLHAS DE <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	26
3.4.1 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS.....	26
3.4.2 FRACIONAMENTO DOS EXTRATOS.....	26
3.4.3 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE FLAVONÓIDES.....	27
3.4.4 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE ALCALÓIDES.....	29
3.4.5 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE TANINOS.....	29
3.5 ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE <i>Plantago major</i> L.....	30
3.5.1 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE FLAVONÓIDES.....	30
3.5.2 EXTRAÇÃO E ANÁLISE DE MUCILAGENS.....	31
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 GERMINAÇÃO.....	32
4.2 ANÁLISE FITOQUÍMICA DAS FOLHAS DE <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	35
4.2.1 FRACIONAMENTO DO EXTRATO.....	35
4.2.2 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES.....	35
4.2.3 ALCALÓIDES.....	41
4.2.4 TANINOS.....	42
4.3 ANÁLISE FITOQUÍMICA DE FOLHAS DE <i>Plantago major</i> L.....	42

4.3.1 ANÁLISE E IDENTIFICAÇÃO DE FLAVONÓIDES.....	42
4.3.2 ANÁLISE DE MUCILAGENS.....	49
CONCLUSÕES	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53

LISTA DE TABELAS

TABELA	página
1 Dados de cromatografia em papel de flavonóides obtidos do extrato foliar de <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	37
2 Dados de espectrometria de UV/Visível de flavonóides de <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	39
3 Dados da cromatografia em papel de flavonóides obtidos do extrato foliar de <i>Plantago major</i> L.....	45
4 Dados espectrais de UV/Visível de flavonóides do extrato foliar de <i>Plantago major</i> L.....	46

LISTA DE FIGURAS

Figura.....	página
1 <i>Bauhinia forficata</i> Link.....	23
2 <i>Plantago major</i> L.....	23
3 Germinação de <i>Bauhinia forficata</i> Link em diferentes temperaturas e níveis de GA ₃	33
4 Germinação de <i>Plantago major</i> em diferentes temperaturas.....	33
5 A. Cromatograma bidimensional dos flavonóides de folhas de plantas adultas de <i>Bauhinia forficata</i> Link	36
5 B. Cromatograma bidimensional dos flavonóides de folhas de mudas de <i>Bauhinia forficata</i> Link	36
6 Espectro de absorção no UV/ Visível de flavonóides foliares de <i>Bauhinia forficata</i> Link	40
7 Estruturas de flavonóides de <i>Bauhinia forficata</i> Link	38
8 Cromatogramas bidimensionais flavonóides foliares de <i>Plantago major</i> oriundos dos três tratamentos fotoperiódicos.	44
9 Espectros de absorção no UV de flavonóides foliares de <i>Plantago major</i> L	47
10 Estruturas de flavonóides de <i>Plantago major</i> L	48

RESUMO

CLEMENTE FILHA, Ana Cardoso Aspectos fisiológicos e fitoquímicos de *Bauhinia forficata* Link e *Plantago major* L. Lavras: UFLA, 1996. 67 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)*

Bauhinia forficata e *Plantago major* são espécies utilizadas como medicinais devido às suas propriedades antidiabética e antiinflamatória respectivamente. Este trabalho teve como objetivos a caracterização de substâncias ativas em função da idade da planta e fotoperíodo, bem como o estudo da germinação destas espécies.

Extratos foliares de plantas adultas e jovens de *Bauhinia* foram submetidos a fracionamentos com diversos tipos de cromatografia. Não foi detectada a presença de alcalóides e taninos. Os flavonóides identificados foram canferol 3-O-(gli-ram-xil) e canferol 3-O-(gli-ram). Qualitativamente não se observou diferenças no perfil flavonoídico de plantas jovens e adultas.

*Orientador: Amauri Alves Alvarenga. Membros da Banca: Cecília Terumi Teradaira Blatt e Maria das Graças Cardoso.

Para *Plantago major*, foram realizadas análises de flavonóides e mucilagens em plantas submetidas a regimes fotoperiódicos de 8 horas, 16 horas e natural (12 h). Não foi observada diferença no perfil flavonoídico nos tratamentos. Os flavonóides apresentados foram glicosídeos de luteolina baseados em ácido glicurônico e glicose. Houve diferença no teor de mucilagens nos diferentes fotoperíodos, sendo que o de 16 horas apresentou maior teor e o natural menor. A mucilagem de *Plantago* é composta de arabinose, galactose e ácido urônico.

Com relação a germinação foram analisados os efeitos da luz, temperatura e diferentes concentrações de GA₃. As sementes de *Bauhinia* são indiferentes à luz, apresentaram maior percentagem de germinação a 30-20^o C e 20^oC e não responderam a aplicação de GA₃. As sementes de *Plantago* mostraram fotoblastismo positivo e melhor germinação a 30-20^oC, não ocorrendo germinação a 20^oC.

SUMMARY

PHYSIOLOGICAL AND PHYTOCHEMICAL ASPECTS OF *Bauhinia forficata* Link AND *Plantago major* L.

Bauhinia forficata Link and *Plantago major* L. are species utilized as medicinals owing to their antidiabetical and antiinflammatory, respectively. This work had as purpose to characterize active substances in terms of the plant age and photoperiod as well as the study of the germination of these species.

Leaf extracts of mature and young plants of *B. forficata* were subjected to fractioning by several sorts of chromatography techniques. Alkaloids and tannins were not detected at all. The flavonoids identified were Kaempferol-3-O-(gly-rham-xyl) and kaempferol-3-O (gly-rham). Qualitatively, differences were not observed in the flavonoidic profiles of young and mature plants.

To *Plantago major*, analysis for flavonoids and mucilages in plant submitted to photoperiodical regimes of 8 h, 16h and natural (12 h) was performed. No differences were observed in the flavonoidic profile of the three photoperiodic treatments. The isolated flavonoids were luteolin glycosides based on glucose and glucuronic acid.

There were different in the mucilage content in the three photoperiods, being that of 16 h showed the gratest mucilage content annd the natural photoperiod the smallest. The mucilage of *Plantago* is made up of arabinose, galactose and glucuronic acid.

Concerning germinnation the effects of light, temperature and different concentrations of GA₃ were analysed.

The seeds of *Bauhinia* are indifferent to light, showed highest germination percentage at 20 and 30/20 ° C and did not respond to the application of GA₃. The *Plantago* seeds showed positive photoblastism and best germination rate at 30-20° C, no germination at 20 ° C.

1 INTRODUÇÃO

Em diferentes regiões florísticas do Brasil, encontra-se uma grande diversidade de espécies medicinais, das quais de acordo com estimativas mais otimistas menos de 1% deste potencial foi quimicamente estudado. Este percentual decresce ainda mais com relação a estudos agronômicos. Assim sendo, a exploração de recursos medicinais no Brasil está relacionada em grande parte, à coleta extensiva e extrativista de materiais silvestres, pois poucas espécies chegam ao nível de cultivo, mesmo em pequena escala (Vieira, 1993).

Estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) relatam que cerca de 80% da população dos países em desenvolvimento fazem uso de algum tipo de medicina tradicional para cuidados básicos de saúde e 85% destes envolvem o uso de plantas. Além disso, das 119 substâncias químicas puras extraídas de plantas usadas em todo o mundo, cerca de 74% destas foram obtidas através do conhecimento popular e do seu uso na medicina tradicional (Farnworth e Soerjato, 1985).

Uma vez que a participação do Brasil no mercado internacional é bastante expressiva, deve-se considerar, que a utilização de plantas medicinais apresenta benefícios sociais e econômicos. Segundo dados da Carteira do Comércio exterior (1984), o Brasil exportou neste ano cerca de 20 milhões de dólares.

Por esta razão, as pesquisas de novas fontes de matérias primas destinadas à obtenção de princípios ativos de efeitos farmacológicos, estabelecimento de padrões de qualidade de matérias-primas brutas, de extratos vegetais bem como de princípios ativos isolados, constituem um campo de trabalho de alta relevância no Brasil, embora ainda incipiente (Oliveira e Bacchi, 1980).

A carência de informações científicas sobre plantas medicinais ou com potencial medicinal, tem levado cientistas a direcionarem suas pesquisas não somente a nível farmacológico e químico, como também ao da fisiologia do desenvolvimento. O conhecimento sobre a propagação dessas espécies é de fundamental importância, pois a demanda crescente torna imperativo a geração de técnicas adequadas de cultivo. O sucesso da propagação, produção de mudas e estabelecimento de plantas requer uma série de conhecimentos fisiológicos e/ ou ecológicos, envolvendo os mais diferentes estádios de seu biociclo.

Os princípios ativos de plantas são geralmente compostos do metabolismo secundário, tais como terpenos (óleos essenciais), glicosídeos (saponinas, flavonóides), alcalóides e taninos. Segundo Swain (1977) algumas proteínas e polissacarídeos ácidos podem ser incluídos entre esses compostos.

O teor dessas substâncias, acumuladas em diferentes partes dos vegetais, varia substancialmente considerando as diferentes fases do desenvolvimento do vegetal e de acordo com os fatores ambientais a que estão submetidos. A literatura mostra poucos trabalhos relacionando quantidade do princípio ativo e estágio do desenvolvimento vegetal, condições de irrigação, luminosidade e adubação.

Em 1982, a Central de Medicamentos (CEME), iniciou um programa de pesquisas em plantas medicinais. Foram selecionadas, com base em levantamentos etnobotânicos e etnofarmacológicos, espécies utilizadas popularmente como hipotensoras, anti-diabéticas e antiinflamatórias. Essas plantas passaram a ser estudadas por grupos interdisciplinares de botânicos, químicos e farmacologistas distribuídos por vários órgãos de pesquisa no Brasil.

Mais recentemente, elas também passaram a ser objetos de estudo biológicos e agrônômicos. Entre várias espécies foram selecionadas para o presente trabalho *Bauhinia forficata* Link (pata de vaca) e *Plantago major* L. (tanchagem) espécies frequentes no município de Lavras e nos levantamentos etnobotânicos da região, e das quais não foram encontrados na literatura dados sobre seus princípios ativos isolados.

Bauhinia forficata Link, vem sendo utilizada como anti-diabética e *Plantago major* L. como antiinflamatória. Não tem sido observado uma especificidade entre o efeito observado e a natureza química do princípio ativo. O efeito anti-diabético pode ser produzido por compostos terpênicos, flavonóides, esteróides, alcalóides, taninos ou por polissacarídeos ácidos, e o efeito antiinflamatório pode ser devido a compostos terpênicos, flavonóides ou polissacarídeos ácidos (Pathak, Pathak e Singla, 1991; Tomoda et al., 1987; Ambike et al. apud Achenbach, Stocher e Constenla, 1988; Costa, 1942;).

Em face do exposto, o objetivo deste trabalho foi levantar dados sobre o processo de germinação das duas espécies citadas e analisar os compostos secundários que pudessem estar relacionados com as atividades observadas popularmente, bem como suas variações qualitativas e quantitativas, em função da idade da planta e regimes fotoperiódicos

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Germinação

A germinação de sementes dentro do contexto do biociclo vegetal é considerado estágio crítico no processo de perpetuação das espécies. Ela pode ser considerada como uma série de conversões metabólicas de reservas, que levam a retomada de crescimento do eixo embrionário. Segundo Mayer e Poljakoff-Mayber (1989) é extremamente difícil definir o momento exato no qual a germinação encerra e se inicia o crescimento da plântula.

O processo da germinação é controlado por fatores intrínsecos e extrínsecos os quais podem ser representados pela composição química da semente, seu balanço hormonal e fatores ambientais, destacando-se nesse último a temperatura , luz , umidade e oxigênio.

2.1.1. Temperatura e luz

Dentre os fatores ambientais que regulam os processos do desenvolvimento vegetal, a temperatura se apresenta como fator primário e limitante na germinação, podendo atuar sobre a taxa de germinação e distribuição de frequência relativa em função do período de incubação (Laboriau, 1973; Laboriau e Agudo, 1987); atuando também na velocidade de embebição, fator decisivo no desencadeamento dos eventos metabólicos (Bewley e Black, 1994; Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989).

Laboriau (1978), refere-se à germinação da semente como um problema termobiológico, e entre os vários parâmetros que desencadeiam a dependência térmica estão os pontos cardinal mínimo, ponto cardinal máximo e o intervalo de temperatura na qual a germinação é mantida uniforme.

Felipe e Silva (1984) realizaram uma ampla revisão sobre germinação de algumas espécies de cerrado, enfocando os feitos da luz, temperatura (constante, alternada e alta), fitorreguladores, escarificação e longevidade das sementes, e sugeriram a necessidade de se pesquisar os efeitos interativos da luz e temperaturas controladas. Segundo, Borges e Rena (1993), para um grande número de espécies tropicais e subtropicais, a faixa térmica mais adequada para a germinação se encontra entre 20 a 30 °C.

Mercier e Gerreiro Filho (1989), constataram que a temperatura de 20 °C retardou o processo de germinação de sementes de *Pleurostima fannieri*, *P. rãgieere* e *Vellozia alata*, quando comparada aos resultados obtidos a 25 °C, 30°C e 25/15°C (D/N). Laura (1993), observou que a melhor temperatura para a germinação de *Muntingia calabura* (calabura) foi a 25 °C.

Temperaturas alternadas simulando as flutuações de temperaturas que ocorrem normalmente na natureza promovem a germinação de muitas sementes (Carvalho e Nakagawa, 1983; Borges e Rena, 1993). Cardoso (1989) estudando a correlação entre temperatura e germinação de três espécies de *Sida*, observou que temperaturas alternadas tendem a promover a germinação de sementes intactas, com regime térmico de 35/20 °C mostrando-se o mais efetivo. Resultados semelhantes foram encontrados por Maida e Ladeira (1989) em algumas solanáceas nativas, que somente germinam quando submetidas à temperaturas alternadas.

Sementes de *Prosopis juliflora* possuem habilidades para germinarem em uma ampla faixa térmica, podendo ser classificadas como euritérmicas. Seu limite mínimo para a germinação está entre 10 e 15 °C e o máximo de 50 a 55 °C e a faixa ótima entre 30 e 35 °C (Perez e Moraes, 1990). Pimpini, Filippini e Gianquinto (1993) trabalhando com *Cichorium intybus* não observaram germinação a 5 °C e 40 °C.

Para *Ageratum conizoides* e *Dioscorea delicata*, o ótimo de germinação ocorreu a 30 °C, embora ocorra germinação em uma faixa de 15 a 30 °C. Contudo, sementes de *Dioscorea olfersiana* não germinaram em temperatura de 15 °C (Ladeira, Zaidan e Figueiredo- Ribeiro, 1987; Ladeira et al, 1992).

Como as plantas medicinais, de um modo geral não sofreram ainda um processo de seleção, uma grande variação é encontrada em suas características morfológicas, químicas e fisiológicas. Assim sendo, pouco se sabe sobre fatores que determinam a germinação destas espécies.

A temperatura afeta a germinação das sementes agindo também na reidratação e síntese do fitocromo e na interconversão de suas formas, sendo assim, o efeito da luz é afetado

pela temperatura (Mayer e Poljakoff-Mayber, 1989; Felipe e Silva, 1984) e é variável com a espécie. A germinação de sementes da maioria das espécies cultivadas não é afetada pela luz, ao contrário, em espécies silvestres é observado grande variabilidade no comportamento em relação a luz.

A presença ou ausência de luz pode estimular ou inibir a germinação de sementes, que dependendo de sua resposta a luz, podem ser classificadas como fotoblásticas positivas, negativas e indiferentes. A alocação de sementes em uma categoria depende das condições de maturação da semente, do armazenamento, da temperatura de embebição e incubação e do tratamento osmótico (Kendrick, Spruit e Frankland, 1969; Hayes e Klein, 1974; Heydecker, Higgins e Gulliver, 1975).

Em alface, a reação fotoblástica das sementes durante a germinação é profundamente influenciada pelo aumento da temperatura (Cunha e Casali, 1989). Isto também foi observado por Laura (1993) em sementes de calabura mantidas a 25°C, concluindo que a calabura é uma espécie fotoblástica positiva nesta temperatura. Por outro lado Arrigoni, (1993) observou que sementes de *Campomanesia rufa* (casaqueira) são indiferentes quanto ao fator luminosidade.

2.1.2. Giberelinas

O balanço hormonal também desempenha um papel relevante no processo de germinação, porém muitas questões sobre fitohormônios estão ainda por elucidar. Segundo Radley (1979), está evidenciado que os reguladores de crescimento em plantas, em particular giberelinas e ácido abscísico (ABA), têm tido um impacto significativo sobre a germinação.

Em muitas sementes, as giberelinas são efetivas na indução de germinação, agindo como substitutas para baixas temperaturas ou luz vermelha (Taylorson e Hendricks, 1977), estimulando grandemente as conversões de polissacarídeos, proteínas e ácidos graxos que são utilizados para a retomada de crescimento do eixo embrionário.

As giberelinas tem sido utilizadas para aumentar a percentagem de germinação de várias plantas aromáticas e medicinais (Scuinchetti, 1961; Ruminske Suchorska e Weglarzet, 1978). Laura,(1993) constatou efeito significativo da aplicação de GA₃ a 200 ppm sobre a germinação de sementes de calabura proporcionando uma maior percentagem de germinação;

Para sementes de casaqueira, Arrigoni (1993) não encontrou efeito significativo na utilização de giberelinas, enquanto que Monteiro, Herrera e Alizaga (1990), além de obter um maior percentual de germinação de sementes de boca de leão, obteve um melhor desenvolvimento das plântulas a 100 e 150 ppm de GA₃.

2.2 Fitoquímica

2.2.1 *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia* comporta cerca de 570 espécies (Robertson e Lee,1976), sendo um gênero cosmopolita, com espécies que se distribuem amplamente em toda a zona equatorial, tropical e subtropical do globo.

No Brasil existem 64 espécies de mata pluvial e de cerrado, que se distribuem por todo território brasileiro (Salatino, 1976). O mesmo autor ressalta a importância de se conhecer as

espécies do gênero, considerando o interesse taxonômico, filogenético, ecológico e econômico. Entre elas destaca-se *Bauhinia forficata* Link, que segundo Costa (1942) é uma espécie genuinamente brasileira.

A diabetes é uma doença sofrida por aproximadamente 40 milhões de pessoas e representa uma das 3 maiores taxas de mortalidade no mundo (Alam, Siddqui e Husain, 1990). Na América do Sul, particularmente no Brasil e Argentina é muito difundido o uso popular de folhas de diversas espécies de *Bauhinia* contra esta doença. Juliani (1931), utilizando *Bauhinia forficata* no tratamento de seus pacientes verificou uma diminuição progressiva no nível de glicose do sangue, além de melhora geral no estado clínico dos mesmos.

Dentre as substâncias presentes no gênero, o grupo das fitohemaglutininas tem sido mais estudado (Toms e Western, 1971). Com relação a pesquisa de compostos orgânicos de baixo peso molecular o gênero é pouco estudado, sendo que até 1988 somente cerca de 10 espécies de *Bauhinia* tinha sido investigada fitoquimicamente (Achenbach, Stocher e Constenla, 1988).

Compostos fenólicos, como flavonóides e ácido gálico, e substância terpênicas são encontradas em diversas referências sobre o gênero.

Kumar, David e Krupadanam (1990) descreveram os constituintes de *Bauhinia vahlii* como metil-4- O-metilgalato, + mopanol e + catequina além do ácido betulínico, campesterol, estigmasterol, β -sitosterol, canferol e agatisflavona. Das cascas de *Bauhinia splendens* foram isoladas sitosterol, estigmasterol, ácido esteárico e uma dimetilenodioxiflavona denominada bausplendina (Laux, Stefani e Gottlieb, 1985).

Iribarren e Pomílio (1987) isolaram de *Bauhinia candicans* sitosterol 3 - O - α - D - xiluronofuranosídeo. O mesmo autor identificou previamente outros glicosídeo esteroidais, todos

eles com sitosterol como aglicona, porém com glicopirranose, xilopirranose e riburonofuranose. Gupta, Vidyapati e Chauhan(1980) isolaram do extrato etanólico do caule de *Bauhinia variegata* canferol-3-glicosídeo e de *B. racemosa* um composto 1,7 dihidroxi-3-metoxi-2 metil =1dibenzeno (2,3 - 6,7)oxepina denominado pacharina (Anjaneyulu, 1984). Vários flavonóides foram identificados a partir de extratos diclorometânicos de partes lenhosas de *Bauhinia manca* como canferol, apigenina, luteolina entre outros (Achenbach, Stocher e Constenla, 1988).

A atividade antidiabética destes extratos é atribuída às diversas substâncias que são encontradas como β sitosterol (Ambike et al apud Achenbach, Stocher e Constenla,1988), flavonóides (Abd- El-Wahab et al., 1987), mucilagens (Tomoda et al, 1989), saponinas (Atta-Ur-Rahman e Zaman, 1989), possivelmente uma guanidina, taninos e ácido clorogênico (Costa, 1975). O efeito antidiabético de alguns dos terpenóides e flavonóides citados têm sido comprovado em outras espécies, mas até o momento não se têm referências a este tipo de trabalho em *Bauhinia*.

2.2.2 *Plantago*

O gênero *Plantago*, especialmente *Plantago major*, apresenta uma ampla distribuição, estendendo-se quase que de polo a polo, embora aparentemente ausente em planícies tropicais (Sagar e Harper, 1964). Estas plantas ocorrem em habitats completamente diferentes, como neve, áreas degradadas, solos compactos de ambientes perturbados, lugares de cultivo, dunas ou solos arenosos ao longõ da orla marinha e depressões muito úmidas próximas ao mar.

Plantago major L. (Plantaginaceae) é uma espécie perene, com folhas ovais rosuladas produzidas por um pequeno caule subterrâneo, cresce frequentemente em habitats perturbados como poucas outras plantas (Pons e Toorn, 1988).

Dentre as espécies do gênero, várias são utilizadas para fins terapêuticos. Mitsuhashi (1988) relata o uso de *Plantago asiática* como antiinflamatório, diurético e antiasmático. Desta mesma planta foram isolados 5 glicosídeos feniletanóides: helicosídeo, plantamajosídeo, isoplantamajosídeo, actiosídeo, 3,4 dihidroxifenetil álcool - 6 - O - cafeoil - β - D - glicosídeo e plantaginina, um glicosídeo flavônico (Ravn et al, 1990).

Apesar do efeito antiinflamatório ser o mais difundido alguns autores relatam a utilização da planta para diarreia crônica e disenteria (Modi, Mehta e Gupta, 1974), diminuição do colesterol no sangue (Taneja et al., 1989) e atividade hipoglicêmica atribuída as mucilagens das sementes (Tomoda et al, 1987). Entretanto, Ravn et al (1990) relata que o princípio que é biologicamente ativo ainda não é conhecido.

2.2.3 Compostos secundários

Compostos secundários podem ser definidos como aqueles que não têm um papel reconhecido na manutenção de processos vitais dos organismos que os sintetizam (Conn e Stumpf, 1981), quer seja, na síntese de protoplasma ou geração de energia.

Entretanto, recentemente, vários autores têm mostrado que os metabólitos secundários exercem importantes funções ecológicas e representam estratégias alternativas para a sobrevivência de plantas exercendo efeitos alelopáticos, intimidando predadores, atraindo

polinizadores, entre outros (Harborne, 1988; Feibert e Langenheim, 1988; Dakora, 1995; Turner, 1995).

Muitas substâncias desses grupos constituem princípios ativos que são utilizados na indústria farmacêutica no fabrico de fármacos e cosméticos, na indústria agrônômica para obtenção de inseticidas como a piretrina e mesmo inclusos nos preparados caseiros da medicina tradicional.

Partindo da via do acetato malonato, do acetato mevalonato e do chiquimato, que são as principais rotas metabólicas, pode-se dividir os compostos secundários em 3 grandes grupos: substâncias terpênicas, compostos fenólicos e nitrogenados (alcalóides e glicosídeos cianogênicos).

Os teores desses compostos não são estáveis e nem se distribuem de maneira homogênea nas diferentes partes dos vegetais, podendo ser encontrados em sítios específicos de acúmulo como rizomas, caules, folhas, sementes ou flores. A variação da concentração destes compostos está sob controle genético, podendo ser alterada pela ontogenia, por condições edafoclimáticas, pela exposição à luz, herbivoria ou mesmo poluentes atmosféricos.

Vários autores têm correlacionado a produção de compostos secundários à variações sazonais (Delitala et al, 1983; Pitarevic, Blazevic e Kustrak, 1984; Cabo, Crespo e Jimenez, 1987; Grella e Picci, 1988), estágio de desenvolvimento (Akhila, Tyagi e Naqvi, 1984; Jogia, 1984; Holm, Galambosi e Hiltunem, 1988), nutrição (Dey e Choudhuri, 1984; Jenelten e Feller, 1992; Ming, 1992), reguladores de crescimento (El - keltawi e Croteau, 1987; Sharma, Singh e Bordoloi, 1988) e condições de estresse (Delitala et al, 1986; Charles, Joly e Simon, 1990) que podem determinar um maior ou menor acúmulo destes compostos.

Segundo Matos (1988), há um aumento na concentração de glicosídeos nas folhas durante o dia devido à fotossíntese e diminuição durante a noite, como ocorre com a digitoxina e outros glicídeos das folhas de *Digitalis purpurea* (dedaleira).

Dentre os compostos que sofrem alterações pelo fotoperíodo, os mais citados são os óleos essenciais (terpenos); porém têm sido feitas pesquisas quanto à influência em outros grupos de compostos. Os teores de triterpenos totais de *Maytenus aquifolium* foram significativamente maior no outono que na primavera, porém a análise de fenóis totais não foi influenciada por flutuações climáticas (Pereira, A. M. S. comunicação pessoal)*. Valle et al (1978), observaram que 2 horas de luz complementando a luz natural, duplicou o teor de tetrahydrocannabinol de *Canabis sativa*.

Segundo Ladeira, Zaidan e Figueiredo Ribeiro (1987) plantas de *Ageratum conizoides*, mantidas em dias curtos (condições em que ocorre a floração), apresentam um aumento no acúmulo de cumarinas e de outros compostos fenólicos. Em *Origanum vulgare* a floração afeta o conteúdo e a composição de óleos essenciais, sendo que em dias longos, além do conteúdo triplicar, há aumento nos componentes fenólicos desses óleos. Em *Origanum syriacum*, planta de dias longos, o conteúdo de monoterpenos é favorecido por dias longos, porém o florescimento afeta o conteúdo, diminuindo-o (Dudai et al, 1992).

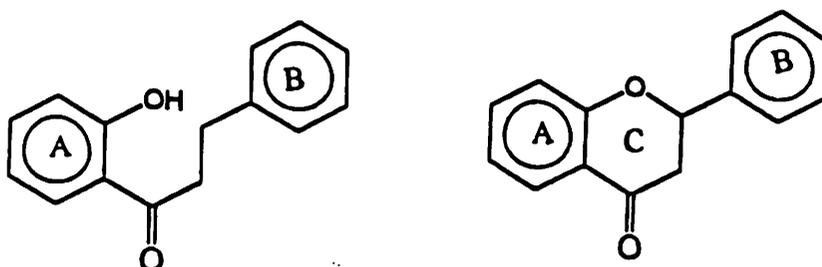
*PEREIRA, A. M. S. Comunicação pessoal. 1995 (Núcleo de Biotecnologia Vegetal, UNAERP, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

2.2.3.1 Compostos fenólicos

O termo compostos fenólicos abrange uma ampla faixa de substâncias plantas as quais possuem em comum anel aromático com uma ou mais hidroxilas substituintes. Estas substâncias tendem a ser solúveis em água, uma vez que elas ocorrem, frequentemente combina-das com açúcares, como glicosídeos e estão geralmente localizadas no vacúolo celular. Entre os compostos fenólicos naturais, dos quais vários milhares de estruturas são conhecidas, os flavonóides formam o maior grupo apesar de fenóis monocíclicos, fenilpropanóides e quinonas fenólicas existirem em quantidades consideráveis. Vários grupos poliméricos importantes encontrados nas plantas como ligninas, melaninas e taninos são polifenólicos; ocasionalmente unidades fenólicas são encontradas em proteínas, alcalóides e entre os terpenóides (Harborne, 1984).

a) Flavonóides

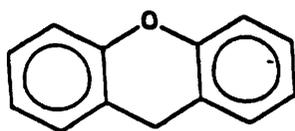
Os flavonóides têm origem biossintética das vias do acetato malonato e da via do ácido chiquímico, sendo o anel A derivado de 3 unidades de acetato condensadas cabeça a cauda e o anel B e os 3 carbonos do anel central derivados do ácido cinâmico (Vickery e. Vickery, 1981). Assim, o esqueleto básico dos flavonóides é constituído por 15 átomos de carbono, formando 2 núcleos fenólicos conectados por uma cadeia de 3 carbonos aberta ou fechada, sendo esta última denominada anel pirano central.



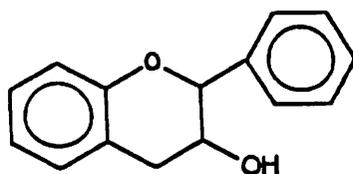
O anel A têm o padrão característico do resorcinol ou floroglucinol e o anel B tem geralmente hidroxilas nas posições 4'; 3'e 4' ou 3', 4'e 5'; outros padrões de hidroxilação também são conhecidos.

O nível de oxidação dos 3 carbonos intermediários é responsável pelas diferentes classes de flavonóides (Gueissman e Crout, 1969), além do anel B que pode estar na posição 2, 3 ou 4 (Hahlbrock, 1981).

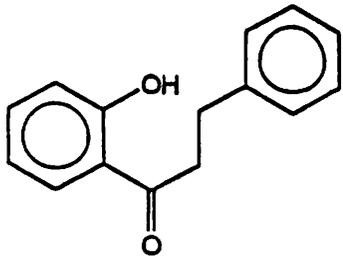
.Flavanas



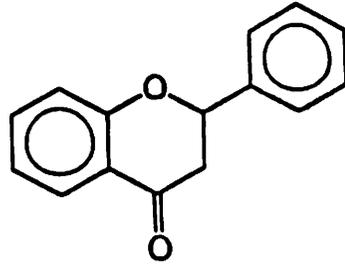
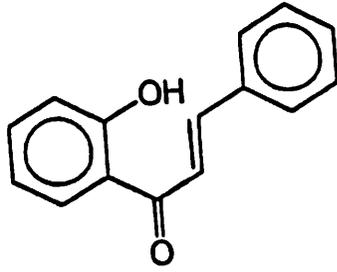
.Catequinas



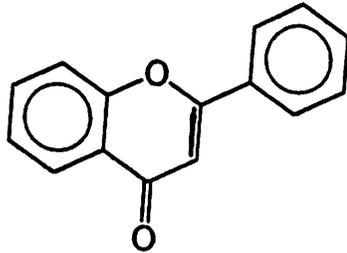
. Hidrochalconas



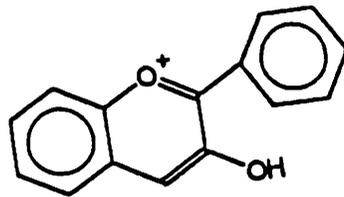
. Chalconas e Flavanonas



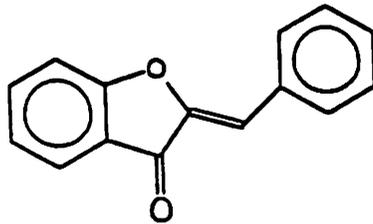
. Flavonas



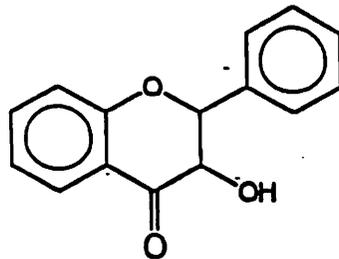
. Antocianidinas



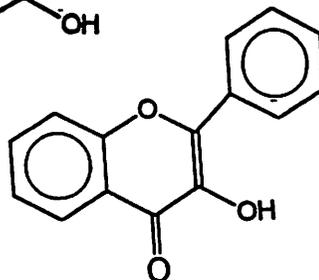
. Auronas



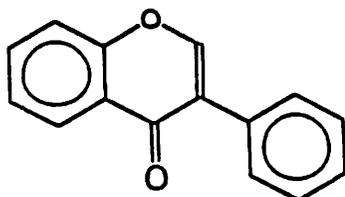
. 3 Hidroxiflavanonas



. Flavonóis



. Isoflavonóides



Os flavonóides apresentam uma grande diversificação estrutural baseada nestas diferentes classes combinadas a vários padrões de hidroxilação, metilação, glicosilação ou outras substituições.

Os principais açúcares encontrados como glicosilantes de flavonóides são glicose, galactose, ácido glucurônico, xilose, ramnose e arabinose. Além destes, apiose, frutose, manose e ácido galacturônico com carboxila substituída ocorrem ocasionalmente. A grande quantidade de glicosídeos de um determinado flavonóide é resultado de várias combinações destes açúcares, que podem ligar se ligar hidroxilas de diferentes posições (Harborne, 1979). Os O-glicosídeos são as formas em que os flavonóides são praticamente universais (Woolenweber e Dietz, 1981).

Os flavonóides são solúveis em água e como são fenólicos mudam de coloração quando tratados com base ou com amônia, podendo ser detectados em cromatogramas e soluções; contêm sistemas aromáticos conjugados apresentando intensas bandas de absorção na região do espectro de UV e do visível e estão presentes na planta geralmente ligados a açúcares podendo ocorrer casos em que uma simples aglicona está presente na planta sob várias combinações glicosídicas (Harborne, 1984).

Os flavonóides são substâncias altamente ativas. Flavonas e flavonóis metilados incluindo a flavona eupatorina (5,3'-dihidroxi-6,7,4'-trimetoxiflavona) tem atividade anticâncer (Kupchan et al, 1969), de varizes ou problemas circulatórios, hisperidina e rutina tem sido utilizada no tratamento capilar e como agente antiinflamatório (Spilková e Hubik, 1988).

Vários flavonóides tem sido testados, apresentando atividade contra diferentes desordens fisiológicas como artrite (Malhotra, Murti e Seshadri, 1967), malária (Nkunya, Waibel e Achenbach, 1993), inibição da infecção HIV (Li et al, 1993).

b) Taninos

Taninos compreendem um grande grupo de substâncias amplamente distribuídas no reino vegetal e quando ocorrem em grande quantidade, eles são usualmente localizados em órgãos específicos como folhas, frutos, casca e caule (Tyler, Brady e Robber, 1988).

Há dois tipos de taninos: os condensados, que ocorrem quase universalmente em pteridófitas e gimnospermas e são amplamente distribuídos entre as angiospermas, especialmente em tecidos lenhosos. Em *Bauhinia holophylla*, os taninos presentes nas folhas são condensados do tipo pirocatequínicos (Salatino, 1976). Os taninos hidrolisáveis são limitados a dicotiledôneas e são encontrados em poucas famílias relativamente. Esses dois tipos de taninos podem ocorrer em uma mesma planta como em árvores de carvalho onde ocorrem na casca e folhas.

A biossíntese dos taninos condensados ocorre a partir da condensação de uma simples catequina (ou galocatequina) para formar dímeros e então oligômeros maiores e a maioria deles apresentam entre duas a 20 unidades de flavanas. O nome proantocianidina é usado alternativamente para taninos condensados porque com o tratamento a quente com ácido, algumas das ligações C- C são quebradas liberando monômeros de antocianidina.

Os taninos hidrolisáveis são polímeros heterogêneos contendo ácidos fenólicos especialmente ácido gálico e açúcares simples, como depsídeos de galoilglicose (Harborne, 1984).

Os taninos possuem a propriedade de transformar pele de animal em couro pelo processo denominado curtimento, pois a ligação do tanino à proteína do colágeno do couro do

animal aumenta a sua resistência ao calor, água e microorganismos; isto determina o alto uso destas substâncias na indústria (Sun et al, 1988).

Segundo Swain (1982), devem ser considerados taninos “quaisquer substâncias de ocorrência natural, com peso molecular suficientemente alto, que tenha um grande número de hidroxilas fenólicas (1 a 2 por 100 unidades de peso molecular) capazes de formar ligações entre proteínas e outras macromoléculas. Estas substância quando adicionadas a dieta, são responsáveis pela diminuição da digestibilidade, sendo que em humanos, causam acidez, sensação adstringente na boca devido a sua ligação com as proteínas salivares, quanto a sua ação terapêutica não se tem muitos estudos.

Costa (1975), não descarta a possibilidade de que a ação hipoglicemiante de algumas plantas se deva aos taninos. Alguns taninos são ativos contra *E. coli* e *Cândida albicans* (que podem causar diarreia), e outros microorganismos (Burapadaja e Bunchoo, 1995).

2.2.3.2 Alcalóides

Os alcalóides compreendem uma grande classe de substâncias secundárias de plantas. O termo alcalóide é mais facilmente descrito do que precisamente definido. Eles são compostos que contém nitrogênio, geralmente incluem substâncias básicas, são heterocíclicos e geralmente exibem atividade fisiológica significativa em humanos e animais. Tais compostos são as mais velhas drogas e ainda são de grande uso na medicina moderna (Conn e Stumpf, 1981).

O grupo dos alcalóides é quimicamente heterogêneo, sendo que sua estrutura pode variar de muito simples a altamente complexa, muitos são de natureza terpenoídica como a solanina, alcalóide esteroidal de batata, sendo considerada do ponto de vista biossintético de terpenóide modificado.

São geralmente ausentes nas gimnospermas, pteridófitas, musgos e plantas inferiores e sua função nas angiospermas é ainda obscura, embora se tenha relato do envolvimento de substâncias individuais na regulação do crescimento, repelentes e atraentes de insetos. A teoria sobre a função de reserva de nitrogênio não é ainda bem aceita (Harborne, 1984).

Os principais alcalóides de uso terapêutico como quinina, morfina, emetina, estriquinina, atropina, escopolamina provêm ainda dos vegetais, sendo poucos os compostos obtidos por síntese total ou parcial (Costa, 1978). Vários autores têm relacionado a atividade antidiabética aos alcalóides (Chen e Xie, 1986; Karawya, 1984; Mitsubish, 1982; Atta-Ur-Rahman e Zaman, 1989).

2.2.3.3 Mucilagens

As mucilagens são polissacarídeos que em presença de água incham e tomam aspecto particular de soluções viscosas. São muito semelhantes às gomas, embora alguns autores as diferenciem das gomas por estas serem facilmente solúveis em água e consideradas como produtos patológicos, enquanto que as mucilagens são produtos normais do metabolismo (Costa, 1978). Entretanto Tyler, Brady e Robber, (1988), relata que esta classificação não é ainda completamente aceita.

As mucilagens são encontradas em muitas plantas e são normalmente formadas da parede celular, sendo essencialmente poliuronídeos, consistindo de açúcares e unidades de ácido urônicos (Trease e Evans, 1989). Apesar de ter sido estudada de modo incompleto (Costa, 1978), pode ser estabelecido os seguintes grupos:

- a - Mucilagens de alto peso molecular constituídas por holósidos.
- b - Mucilagens formadas pela condensação de ácidos urônicos, em particular.
- c- Mucilagens caracterizadas pela existência de ésteres sulfúricos de poli- holósidos, próprias das algas.

Na planta, a mucilagem exerce função de reserva, retenção de água em bulbo, raízes, folhas e em sementes durante a germinação e ainda de proteção contra alguns microorganismos.

As mucilagens apresentam propriedades antiinflamatórias, laxativas, antidiarréicas e são utilizadas na indústria farmacêutica para correção do gosto de certos fármacos, estabilidade de emulsões e pomadas e na indústria alimentar no fabrico de geléias e doces diversos; também são utilizadas para preparo de meios de cultura para cultivo de fungos, bactéria e tecidos de plantas.

Tomoda et al. (1987) apresentam uma tabela com 20 mucilagens de plantas com ação hipoglicemiante, incluindo glucomananas, glico e galactopiranosil uronídeos, paniculatan e mucilagem A de *Plantago*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Espécies estudadas

A escolha das espécies se deu a partir de uma listagem da Central de Medicamentos (CEME) do Programa de Pesquisas de Plantas Medicinais - Portaria nº 093/82.

Bauhinia forficata Link (pata de vaca) é uma planta espinhenta, de 5 a 9 m de altura, com tronco de 30 a 40 cm de diâmetro. Folhas glabras ou levemente pubescente na face dorsal, divididas até acima do meio, de 8- 12 cm de comprimento. Acúleos quase sempre gêmeos. Suas folhas são reputadas como medicinais (Lorenzi, 1992) e são utilizadas popularmente nos tratamentos de diabetes (Figura 1).

Plantago major L. conhecida popularmente como tanchagem, (Figura 2) é uma erva perene da família Plantaginácea, acaule, medindo de 15 a 25 cm de altura, com reprodução principalmente por sementes, apresenta folhas rosuladas basais com nervuras proeminentes, inflorescência espiga e fruto tipo cápsula deiscente podendo conter até 30 sementes por cápsula. É utilizada popularmente nas afecções da garganta, aftas e inflamações em geral (Cruz, 1985)

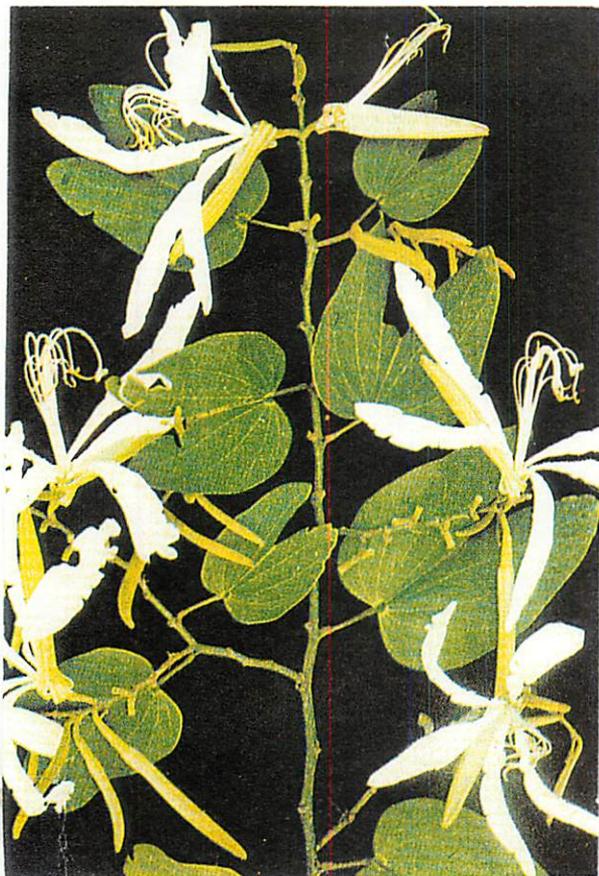


FIGURA 1 *Bauhinia forficata* Link



FIGURA 2 *Plantago major* L

3.2 Germinação

As sementes de *Bauhinia forficata* foram coletadas de plantas localizadas próximo à BR 265 e 381 no município de Lavras MG e beneficiadas no Departamento de Ciências Florestais da UFLA. Foi feita a desinfecção com hipoclorito de sódio a 1% por 15 minutos seguido de lavagem com água destilada.

Os ensaios de germinação foram realizados em placa de Petri de 9 cm de diâmetro. As sementes foram colocadas para germinar entre papel de filtro Klabin, previamente umedecidos com água destilada.

Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em esquema fatorial 3x3 com 5 repetições de 50 sementes cada. As avaliações foram realizadas diariamente de manhã e à tarde por um período de 15 dias; considerou-se como germinadas as sementes que apresentaram a protrusão da radícula.

Foi determinado o efeito da luz; das temperaturas de 20 , 30 e 30 /20⁰C (D/N) e das soluções de giberelina (GA₃) a 150 e 300 ppm, na germinação das sementes. Utilizou-se câmaras BOD FANEM modelo 347 e a intensidade luminosa na altura das placas foi de 437 μ W cm⁻² e o escuro contínuo foi obtido pela cobertura das placas com papel alumínio e colocadas em sacos de polietileno preto.

As sementes de *Plantago major* também foram coletadas no município de Lavras e submetidas às temperaturas de 20 °C, 25 °C, 30°C e 30/20 °C em luz e escuro contínuos. Em ambos os experimentos utilizou-se DIC em esquema fatorial 2x4 com 5 repetições de 50 sementes cada. Os ensaios foram realizados nas condições descritas acima. Para a análise estatística os

resultados em percentagem de germinação foram transformados em valores angulares (arc sen da raiz da percentagem). A análise de variância dos tratamentos foi feita pelo teste de Tukey, ao nível de 5% (Gomes, 1987).

Utilizou - se para as análises o programa para microcomputador P.C., fornecido pelo Prof. Dr. Ladaslav Sodek (Depto de Fisiologia Vegetal - UNICAMP).

3.3 Efeito da idade da planta e fotoperíodo no acúmulo de metabólitos secundários

Em *Bauhinia forficata*, procurou-se analisar substâncias ativas em plantas adultas (seis anos) que se desenvolveram em condições naturais e em plantas jovens, submetidas a 70% de irradiação solar. Neste caso, plântulas obtidas da germinação de sementes foram transferidas para sacos de polietileno contendo terra de subsolo: areia: esterco na proporção 2: 1: 2 (e mantidas em sombrite a 70% de irradiação por 6 meses , quando foram efetuadas a medida de altura, contagem do número de ramos e folhas, corte de todas as folhas da planta, peso da matéria fresca e seca em estufa a 60°C com ventilação forçada.

Em *Plantago major* foram analisadas substâncias ativas em plantas mantidas em fotoperíodo de 8 horas, 16 horas e natural (12 horas). Para isso, as sementes foram colocadas em caixas contendo terra e areia 2 : 1 e as plântulas obtidas foram transferidas para vasos de 1400 cm³ com terra e submetidas aos diferentes fotoperíodos citados. Tendo em vista o desenvolvimento desuniforme das plantas a coleta das folhas foi realizada no início da floração, e determinou-se a área foliar pelo programa Leaf Measurement System versão 2.8, as medidas de altura, pesos das matérias fresca e seca.

3.4 Análise fitoquímica em folhas de *Bauhinia forficata*

3.4.1 Obtenção dos extratos

As folhas secas das plantas adultas e jovens foram moídas em processador Arno e submetidas a extração exaustiva em clorofórmio : metanol 2: 1 e em metanol puro. Os extratos foram concentrados sob pressão reduzida e depois em banho maria sob ventilação.

3.4.2 Fracionamento dos extratos

O extrato clorofórmico das folhas de plantas adultas foi submetido a cromatografia em coluna de sílica gel G - CC.SG (670-230 mesh -Merck), com os seguintes sistemas de solventes: hexano :diclorometano 4 : 1; 3 : 2; 1 : 4 e diclorometano : acetona 4 : 1; 3 : 2; 1 : 4.

Foram retiradas 15 frações de 50 ml para cada mistura de solvente. As frações foram evaporadas e submetidas a cromatografia em camada delgada - CCD-SG no mesmo solvente em que a fração foi eluída, e após revelação em iodo juntou-se as frações semelhantes para CCD-SG em clorofórmio:metanol: água 64:36:8.

O extrato metanólico foi submetido a partição com solventes orgânicos de diferentes polaridades. Inicialmente utilizou-se butanol/água 1: 1. A fração aquosa obtida foi liofilizada e a butanólica seca, suspensa em metanol a 80% e fracionada utilizando-se hexano, clorofórmio e acetato de etila.

Tendo em vista que nos processos acima não se obteve um bom fracionamento das substâncias presentes nos extratos foram realizadas extrações específicas para flavonóides, taninos e alcalóides.

3.4.3 Extração e análise de flavonóides

Os procedimentos para extração e análise de flavonóides seguiram os métodos propostos por Markham (1982) e Mabry, Markham e Thomas (1970), com algumas modificações.

Folhas de plantas jovens e adultas pulverizadas, foram submetidas a extração com metanol 80% sob refluxo. Utilizou-se 10 g do pó e a extração foi repetida 3 vezes. Em seguida os extrato foram concentrados até a secura e ressuspendidos em metanol.

Esses extratos foram submetidos a cromatografia qualitativa bidimensional em papel Whatman 3 MM em butanol:ácido acético:água -6:1:2 (BAW) e ácido acético 15 %.

O extrato de folhas de plantas jovens foi fracionado em coluna (2,5 cm de diâmetro x 45 cm de altura) de polivinilpirrolidona (PVPP). O PVPP (8 gramas) foi macerado em clorofórmio: metanol: metil etil cetona: acetona 20: 10: 5: 1 (solvente de Egger) durante uma noite e a coluna foi empacotada no mesmo solvente. A eluição da coluna foi feita com Egger e MeOH 80% , acompanhada com luz UV.

As frações que continham manchas púrpura na luz UV, que é indicativo de flavonóides, foram depositadas em faixas e submetidas à cromatografia preparativa em papel Whatman 3 MM , no mesmo solvente citado acima. As faixas que mostraram manchas púrpuras no UV, foram recortadas e centrifugadas em centrífuga Internacional a 2500 rpm, por 3 vezes em metanol.

A identificação numérica destas foi feita acrescentando-se um número correspondente ao seu comportamento frente ao eluente: 1 para aquela que teve maior valor de Rf e assim por diante (por exemplo, 5.1, 5.2, onde 5.1 teve o Rf maior que 5.2). O material obtido foi purificado por cromatografia em coluna (1,25 cm de diâmetro x 30 cm de altura) de Sephadex LH -20, acompanhada com luz UV, eluída com metanol.

Parte de cada fração foi submetida à cromatografia em papel (CP) qualitativa em papel Whatman 1 CHR utilizando ácido acético 15 % e em BAW, para obtenção dos valores de Rf. O restante foi hidrolisado com 4 ml de HCl 1 N em banho maria a 60 °C por 2 horas, adicionando-se em seguida, 4 ml de acetato de etila por 3 vezes. Na fase superior ficaram as agliconas e na inferior os açúcares. Estas foram secas em banho maria sob ventilação.

Realizou-se então a co-cromatografia em sílica gel F₂₅₄ das agliconas em clorofórmio : ácido acético: água (CAW) 9: 2: 1 com padrões de quercetina, luteolina e quercetagetina e a co-cromatografia de açúcares em placas de sílica gel F₂₅₄ (deixadas por uma noite em fosfato monobásico de sódio 0,5 M) com os padrões galactose, glicose, ramnose, arabinose e xilose.

Fez-se espectrofotometria de UV/visível dos glicosídeos e das agliconas, em espectrofotômetro Beckman DU 70. Os espectros de flavonóides apresentam 2 bandas, I e II, cujos comprimentos de onda variam em grande parte para flavonas e flavonóis:

	Banda II (nm)	Banda I (nm)
Flavonas	250-280	310-350
Flavonóis	250-280	350-385 (3-OH)
	250-280	330-360 (3-OR)

Os espectros de flavonóides foram determinados em solução metanólica e com o reagente ionizante KOH. Os espectros obtidos com adição deste reagente indicam o padrão de hidroxilação. KOH ioniza todas as hidroxilas fenólicas, causando um desvio batocrômico em ambas as bandas (I e II) do espectro UV característico das flavonas e flavonóis, em relação ao espectro obtido em solução metanólica sem reagentes.

Um desvio batocrômico na banda I acompanhada de aumento de intensidade indica a presença de 4'-OH; se for acompanhada de diminuição na intensidade, salvo casos de decomposição rápida, indica 4'-OR, onde R pode ser uma metila, um açúcar ou um outro substituinte. A presença de uma terceira banda, B III, intermediária entre I e II indica 7-OH.

3.4.4 Extração e análise de alcalóides

Procedeu-se a extração de 25 g de pó das folhas da planta adulta e 100 g de pó das jovens em ácido acético 10 %. Em seguida o extrato foi alcalinizado com hidróxido de amônio a pH 8. Após a centrifugação o precipitado foi seco em dessecador a vácuo. Amostras desses materiais suspensas em clorofórmio foram submetidas a cromatografia de sílica gel desenvolvida em clorofórmio: dietilamina, 9:1. A revelação foi feita com solução de Dragendorff.

3.4.5 Extração e análise de taninos

Foi feita a extração de 500 mg de pó das folhas de plantas adulta e jovem em metanol/água 1:1, sob refluxo por 3 vezes. A quantificação de taninos foi realizada pelo método descrito em Hagerman (1987). Assim, 15 µl dos extratos foram colocados em cavidades de uma camada de

gel de agarose tipo I da Sigma contendo albumina de soro bovino 0,1% p/v. Utilizou-se como padrões soluções de ácido tânico em diferentes concentrações. O método baseia-se no princípio de que a quantidade de tanino precipitado é proporcional à área do halo que se forma ao redor das cavidades.

3.5 Análise fitoquímica das folhas de *Plantago major*

Procedeu-se a análise de flavonóides e mucilagens para as plantas mantidas nos 3 tratamentos fotoperiódicos. As folhas foram submetidas a secagem em estufa a 60 ° C até peso constante e em seguida foram pulverizadas em processador Arno.

3.5.1 Extração e análise de flavonóides

A extração foi realizada a partir de pó de folhas de plantas oriundas do fotoperíodo natural, 8 e 16 horas, em metanol 80% sob refluxo por 3 vezes e concentrados a pressão reduzida.

Os extratos obtidos foram submetidos a cromatografia bidimensional em papel Whatman 3 MM, desenvolvidos em BAW 6:1:2, e ácido acético 15 %. Os extratos das plantas provenientes do fotoperíodo natural foram fracionados em coluna de PVPP, conforme descrito anteriormente.

Em adição ao reagente utilizado em *Bauhinia* na análise espectral, foram utilizados AlCl_3 e HCl . AlCl_3 se complexa aos grupos di-hidroxílicos vicinais. Cada complexo formado tem um efeito batocrômico, e este tem propriedade aditiva. Orto-di-hidroxilas no anel B têm efeito de

30-40 nm e no anel A, de 20-25 nm. HCl desfaz todos os complexos quelados, exceto o do grupo carbonila.

3.5.2 Extração e análise de mucilagens

A extração foi feita a partir de 60 g de folhas frescas dos materiais cultivados em diferentes fotoperíodos, conforme técnica descrita por Sierakowski (1982).

Assim sendo, as folhas foram mergulhadas em etanol por 72 horas e após secagem ao ar, foram colocadas em acetona por 48 horas. O material foi triturado em processador Arno e extraído em Soxhlet com benzeno:etanol 2:1 por 48 horas.

A extração das mucilagens foi feita em água a 85 °C durante 3 dias. Os sobrenadantes foram reunidos, dialisados contra a água por 24 horas. Em seguida, as mucilagens obtidas foram precipitadas em etanol (3 volumes) por 24 horas, sendo o precipitado centrifugado a 12000 x g 4° C por uma hora. O precipitado foi lavado com acetona por 3 vezes, seco a vácuo, pesando-se em seguida as mucilagens.

Para a análise da composição das mucilagens, o material foi hidrolisado com HCl 2N a 100 °C por 5 horas e submetido a cromatografia descendente em papel Whatman 1 CHR. Os cromatogramas foram desenvolvidos em acetato de etila: ácido acético:piridina:água (60:15:15:10) durante 40 horas. A revelação foi feita pelo método de Trevelyan, Procter e Harrison (1950).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- Germinação

As figuras 3 e 4 representam respectivamente, a percentagem de germinação em função do tempo para *Bauhinia forficata* e *Plantago major*.

Para ambas as espécies, o maior percentual de germinação ocorreu no regime térmico de 30-20°C. A indução da germinação por temperaturas alternadas não é um fenômeno raro (Erasmus e van Staden, 1986) e as mudanças de temperaturas aumentam a permeabilidade do tegumento em sementes que apresentam dormência física, favorecendo a embebição e consequentemente a germinação (Baskin e Baskin, 1988)

As sementes de *Bauhinia forficata* apresentaram baixa percentagem de germinação, sendo a máxima obtida ao redor de 50% (figura 3). Lorenzi (1992), relata que sementes desta espécie apresentam germinação inferior a 30 %, devido ao fato destas apresentarem tegumento duro e impermeável a água e a gases, indutores de dormência em várias sementes (Verma, 1978).

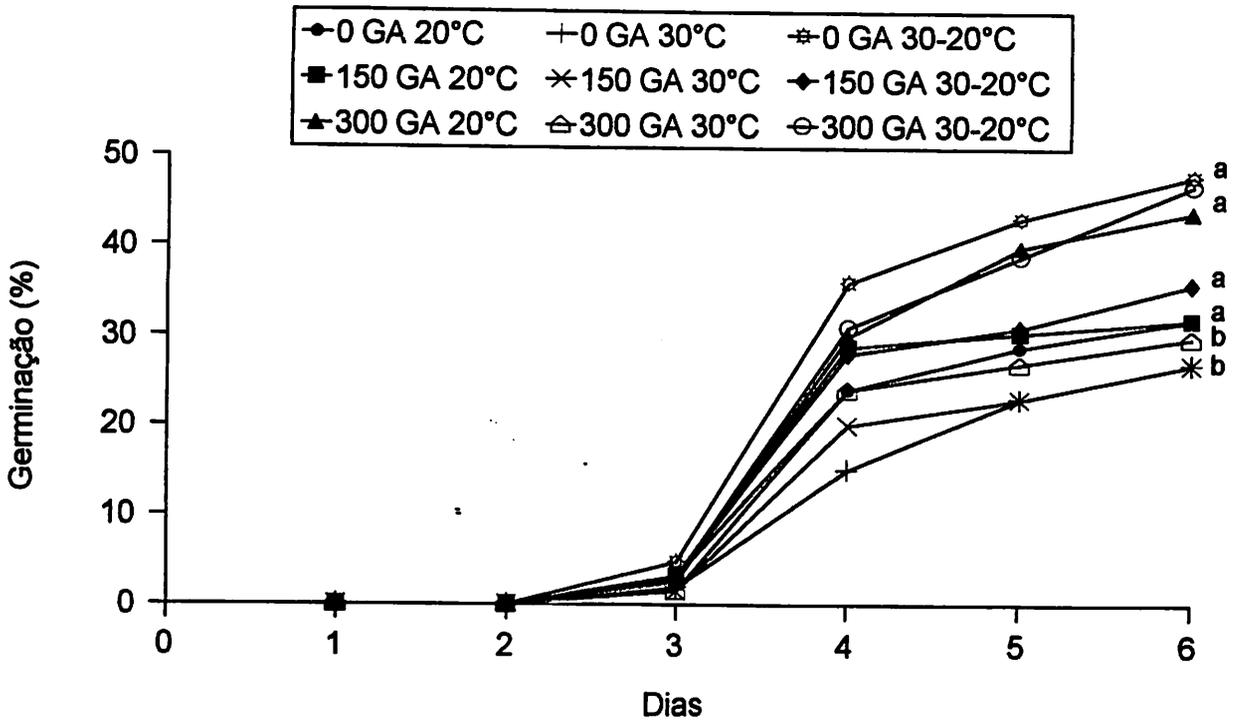


FIGURA 3. Germinação de *Bauhinia forficata* Link em diferentes temperaturas e níveis de GA₃.

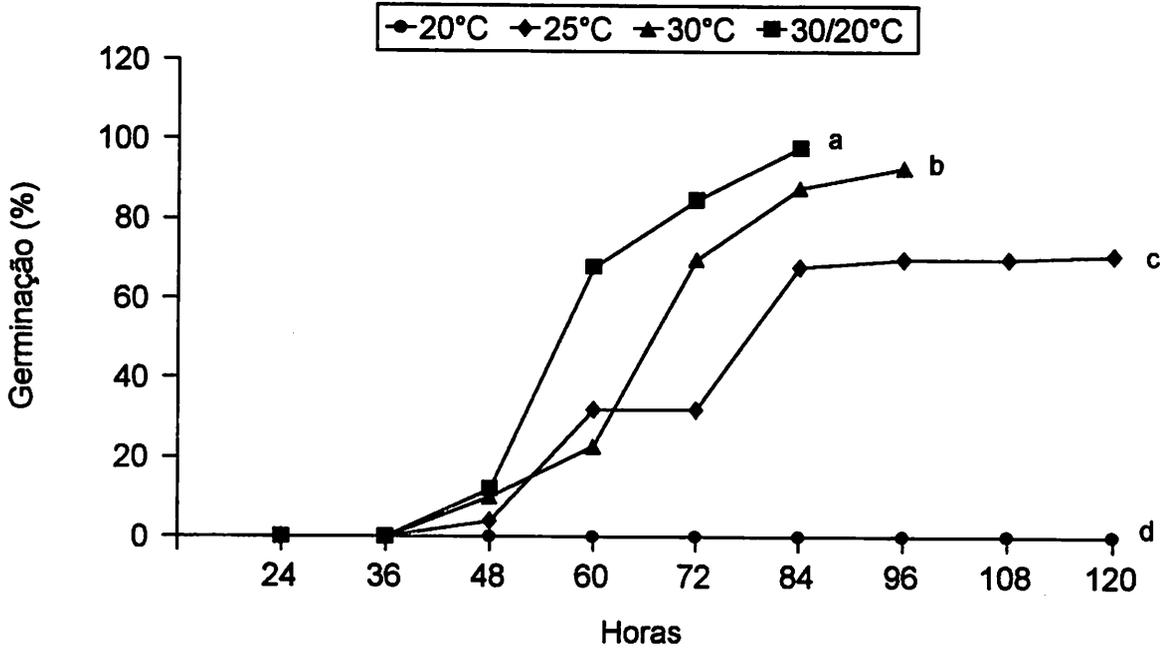


FIGURA 4. Germinação de *Plantago major* em diferentes temperaturas. Curvas seguidas pela mesma letra significa que as médias não diferem entre si pelo teste de Duncan ao nível de 5%.

Conforme pode ser observado na figura 3, a aplicação de GA₃ não foi efetiva. Entretanto em *Plantago ovata*, as giberelinas promoveram a germinação em diferentes temperaturas. O tratamento associado de baixas temperaturas e giberelinas, aumentaram a taxa de germinação e sobrevivência no campo (McNeil e Duran, 1991)

Sementes de *Plantago major*, não germinaram em temperatura de 20 °C (figura 4). Todavia em *P. ovata*, temperaturas inferiores a 20°C provocaram reduções significativas na germinação, fato este também observado em altas temperaturas (Patel , Sriran e Dalal, 1978).

Em temperaturas de 30/20°C, as sementes de *P major* apresentaram 100% de germinação, sem haver necessidade de tratamentos prévios (figura 4). Por outro lado, *P. ovata* requer tratamentos prévios para a quebra de dormência com giberelinas e KNO₃ (McNeil, 1989), com propósito de aumentar a percentagem de germinação.

As sementes de *P.major* mostraram fotoblastismo positivo, sendo que o mesmo foi observado por Kendrick e Kronenberg, 1986. Entretanto, sabe-se que sementes de uma mesma espécie poderão apresentar comportamento diferenciado, em função das condições climáticas a qual foi submetida a planta matriz (Bewley e Black, 1994).

As sementes de *Bauhinia forficata* mostraram-se indiferentes à luz. Segundo Foster (1986), muitas árvores de florestas tropicais que produzem sementes grandes, estas podem ser insensíveis à luz.

4.2 Análise fitoquímica em folhas de *Bauhinia forficata* Link

4.2.1 Fracionamento do extrato clorofórmio : metanol 2:1 em coluna de sílica gel

Esse fracionamento não apresentou um bom resultado e nem a partição do extrato metanólico com solventes orgânicos de diferentes polaridades. Atribui-se a esse fato, a alta polaridade do material e posteriormente as frações foram submetidas a outros tipos de análises.

4.2.2 Análise e identificação de flavonóides

A cromatografia bidimensional em papel do extrato foliar de plantas de *Bauhinia* adultas (6 anos) e jovens (6 meses) apresentaram perfil flavonoídico semelhante (Figuras 5A e 5B). Embora os dois extratos não tenham apresentado variação a nível qualitativo, é possível que ocorra variações quantitativas no conteúdo de compostos com a idade da planta e que podem ser determinadas com o uso de metodologias adequadas.

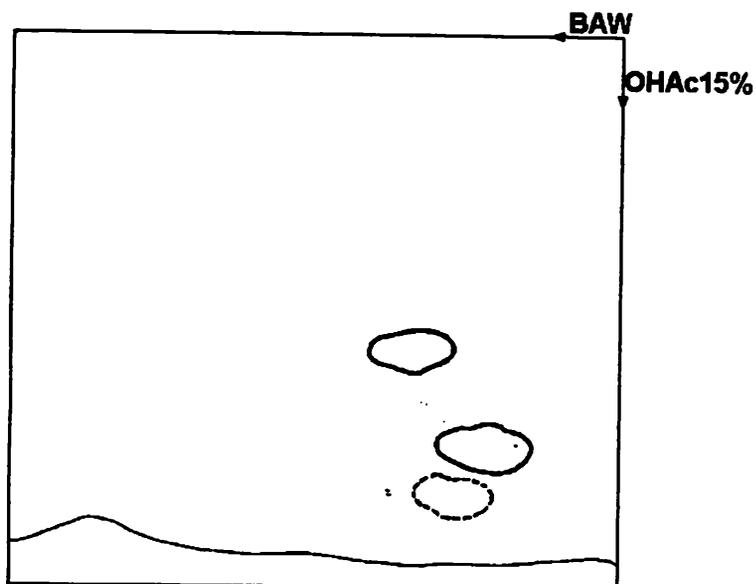


FIGURA 5A Cromatograma bidimensional dos flavonóides de folhas de plantas adultas de *Bauhinia forficata* Link _____mancha púrpura escura -----mancha púrpura clara

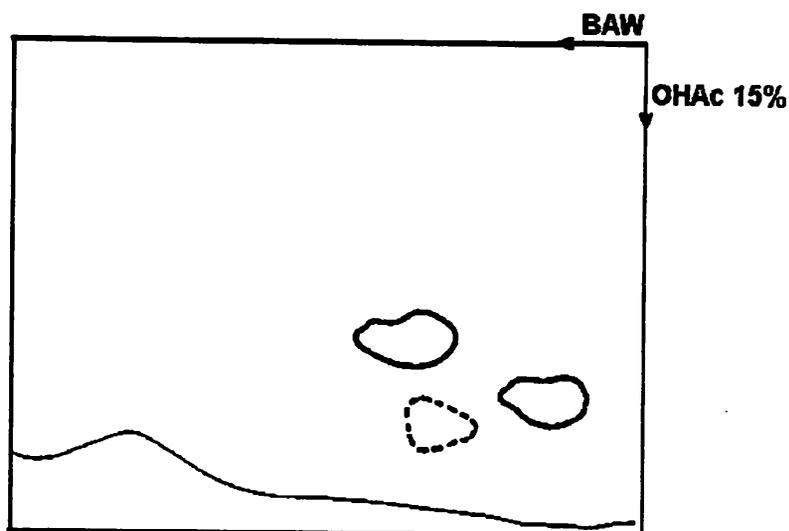


FIGURA 5B Cromatograma bidimensional dos flavonóides de folhas de mudas de *Bauhinia forficata* Link
_____mancha púrpura escura -----mancha púrpura clara

Foram obtidas da coluna de PVPP 10 frações, 2 com solvente de Egger e 8 com metanol 80%. Fazendo CP em pontos dessas frações em ácido acético 15 %, 4 delas (6, 7, 9, 10) apresentaram uma mancha púrpura sob luz UV e a de nº 5 apresentou 2 manchas.

Após CP em faixa destas frações (onde algumas se desdobraram), e purificação por coluna de Sephadex LH - 20 foram obtidos flavonóides apenas das frações 5.2 e 7.3. Os dados de Rf em ácido acético 15% e BAW estão na tabela 1.

TABELA 1- Dados de cromatografia em papel de flavonóides obtidos do extrato foliar de mudas de *Bauhinia forficata* Link.

Fração	Rf (x 100)		Coloração
	BAW	OHAc 15%	UV/NH ₃
5.2	40	78	P/A
7.3	60	60	P/A
rutina	56	55	P/A

Após hidrólise e co-cromatografia com padrões, ambos os glicosídeos apresentaram os açúcares glicose, xilose e ramnose e uma mesma aglicona.

Pelos resultados da hidrólise poderia se inferir que se tratam de mesmo glicosídeo, porém os valores de Rf da tabela acima levam a sugerir que 5.2 seja um triglicosídeo, devido ao alto valor de Rf (78) em ácido acético e em BAW menor que o da rutina (um diglicosídeo).

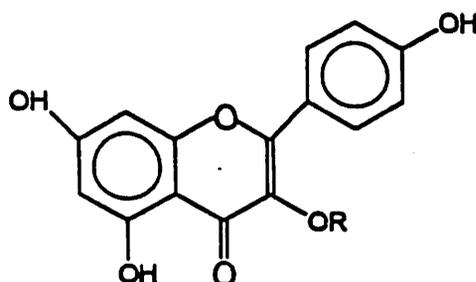
A fração 7.3 apresenta valores mais próximos ao da rutina sugerindo que se trata de um diglicosídeo de ramnose e glicose. A presença de um terceiro açúcar pode ser explicada por

contaminação com o triglicósido, pois muitas vezes, a separação de glicosídios diferentes da mesma aglicona é dificultada pela impossibilidade de separação dos açúcares quando se utiliza técnicas básicas de isolamento de flavonóides. Nestes casos, a separação é possível fazendo cromatografia em fase gasosa ou cromatografia de alto desempenho (Harborne e Mabry, 1982; Niemann e Brederode, 1978).

Com relação às agliconas, estas apresentaram Rf diferentes dos padrões e sob luz UV mostraram coloração amarela, indicando ser flavonol., com Rf maior que o da quercetina, característico de canferol no sistema de solvente utilizado.

Os espectros de UV de flavonóis apresentam na banda I, valores diferentes para agliconas (350 - 385nm) e glicosídeos (330 - 360nm). Os valores apresentados pelos glicosídeos e aglicona isolados de *B. forficata* correspondem ao de canferol (Markham, 1982), confirmando os dados cromatográficos.

Os dados espectrais de UV dos glicosídeos e da aglicona em Me OH e KOH são apresentados na tabela 2 e nas figuras 6A, 6B e 6C. Os flavonóides de *Bauhinia forficata* são apresentados na figura 7.



1. Canferol-3-O-(gli-xil-ram): R= (gli-xil-ram)*
2. Canferol-3-O-(gli-ram): R= (gli-ram) * A sequência dos açúcares não foi determinada

FIGURA 7 - Estruturas dos flavonóides de *B. forficata* Link

TABELA 2 Dados de espectrometria de UV de flavonóides de *Bauhinia forficata* Link (λ_{max} , nm)

Fração	composto	MeOH	MeOH/KOH
glicosídeo 5.2	Canferol-3-O (glicose- ramnose-xilose)	347,50	396,50
		297,50	324,50
		266,00	274,00
glicosídeo 7.3	Canferol-3-O(glicose- ramnose-xilose)	349,00	395,50
		297,00	325,00
		265,50	273,50
Aglicona 7.3	Canferol	365,00 322,00	417,00
		299,00	233,00
		266,00	278,00
	Canferol * (padrão)	367,00	416,00
		322,00 e 294(ombros)	316,00
		266,00	278,00

* Markham, 1982.

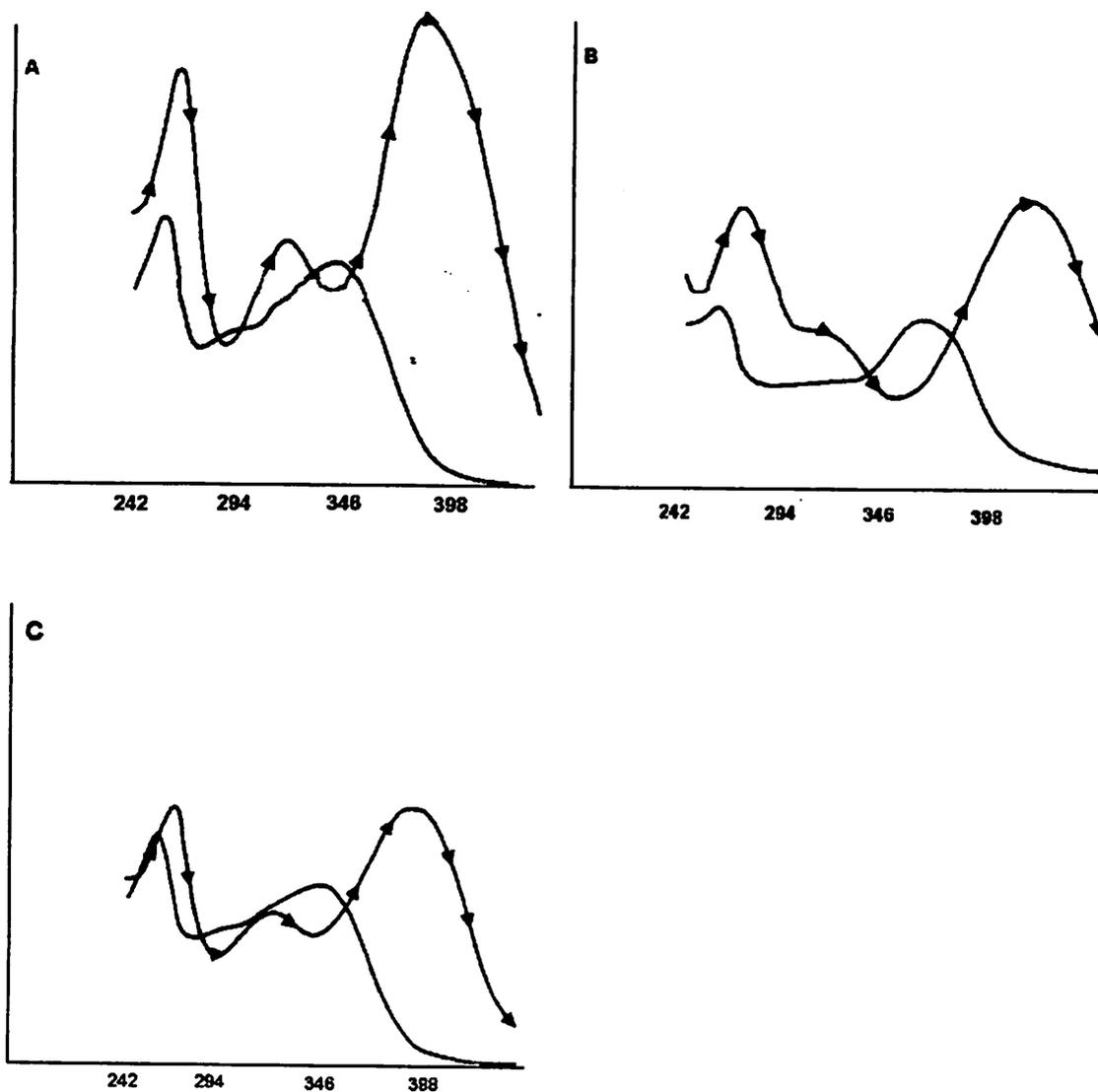


FIGURA 6 Espectro de absorção no UV de flavonóides foliares de *Bauhinia forficata* Link

— : solução metanólica - (MeOH)

- - - : solução metanólica contendo KOH - (MeOH/KOH)

6A - glicosídeo da fração 7.3 6B - aglicona da fração 7.3 6C - glicosídeo da fração 5.2

6A e 6C são glicosídeos de canferol

A presença de 3 manchas no cromatograma bidimensional indica a ocorrência de 3 flavonóides distintos, sendo um diglicosídeo e 2 triglicosídeos. O procedimento para o isolamento não possibilitou a separação dos triglicosídeos, provavelmente pela quantidade muito pequena apresentada por um deles.

No gênero *Bauhinia*, a quercetina possivelmente ocorre com alta frequência, tendo sido relatada em *Bauhinia reticulata*, *B. tomentosa*, *B. thomningii* e *B. holophylla* (Salatino, 1976). Entretanto canferol, um flavonol bastante comum, foi encontrado em *Bauhinia variegata* (Gupta, Vidyapati e Chauan, 1984), *B. vahlii* (Kumar, David e Krupadanam, 1990), *B. manca* (Achenbach, Stocher e Constenla, 1988) e agora em *B. forficata*.

A presença de canferol-3-O-ramnosídeo em frações de *Zizyphus rugosa* apresentou efeitos hipoglicemiantes em ratos (Khosa, Pandey e Singh, 1983), assim a presença desses glicosídeos de canferol em folhas de *B. forficata* pode estar relacionada a sua atividade antidiabética. Este gênero parece apresentar uma dicotomia de flavonóis, com espécies apresentando quercetina e outro grupo canferol.

4.2.3 Alcalóides

Não foi detectada a presença de alcalóides no extrato, embora, Costa (1942) tenha relatado a presença de um alcalóide que não foi possível identificar.

Yousif, Iskander e Eisa (1983), investigaram os componentes alcaloídicos de algumas plantas, detectando que a presença ou ausência de alcalóides em uma mesma planta, apresentava

variações de acordo com a metodologia de extração e o revelador utilizado. Assim, pode ser necessária a utilização de outra metodologia para confirmação.

4.2.4 Taninos

O extrato das folhas de *B. forficata* não apresentou taninos, porém em folhas de *B. holophilla* os taninos condensados estavam presentes (Salatino, 1976); nesta espécie é provável que os taninos não estejam correlacionados com a ação antidiabética como sugerido por Costa (1975). A maioria dos taninos encontrados em folhas são considerados compostos de defesa, principalmente a herbivoria (Turner, 1995), porém há outras formas de defesa que são desempenhadas por outros compostos..

4.3 Análise fitoquímica em folhas de *Plantago major*

4.3.1 Análise e identificação de flavonóides

A cromatografia bidimensional em papel do extrato foliar de *Plantago major* apresentou perfil semelhante nos fotoperíodos de 8 horas e natural. No fotoperíodo de 16 horas, apesar de apresentar 2 manchas os Rf foram distintos. Isto pode ser devido a dificuldade de desenvolver a cromatografia, do mesmo modo que as anteriores, primeiro em BAW e depois em ácido acético 15%. Neste caso, só foi possível fazendo o inverso, porque o extrato não saía da origem, quando se utilizou BAW como primeiro sistema de solventes (figura 8A, 8B e 8C).

A biossíntese de flavonóides está sujeita ao fotocontrole, porém o controle da luz é efetivo em determinadas regiões do espectro como UV-B, que estimula as enzimas desta rota biossintética (Kendricks e Kronenberg, 1986)

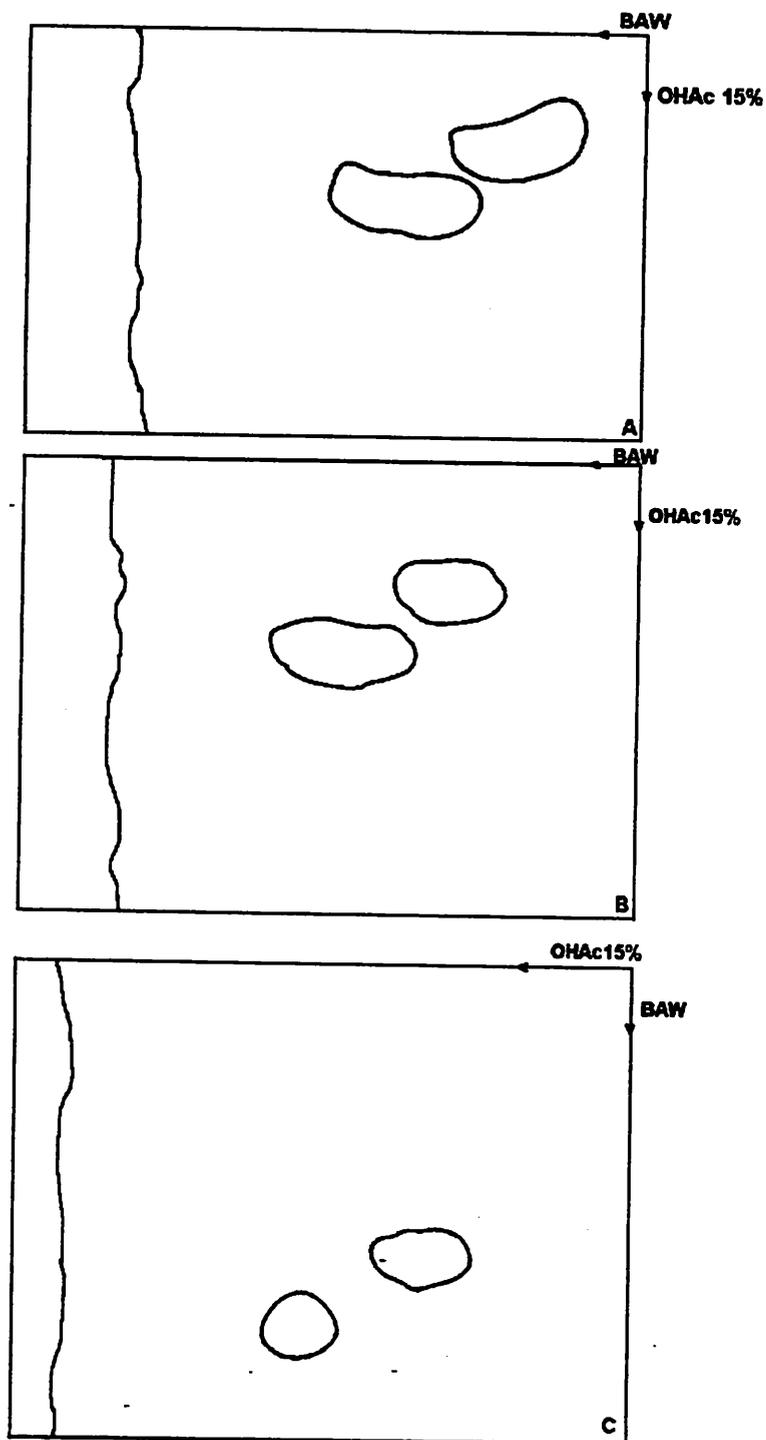


FIGURA 8 Cromatogramas bidimensionais de flavonóides foliares de *Plantago major* L. oriundos de três tratamentos fotoperiódicos. A - fotoperíodo natural B - 8 horas C - 16 horas

Do fracionamento em coluna obteve-se 11 frações da coluna de PVPP. A clorofila foi retirada com Egger na fração 1 e o restante em metanol 80% em frações de 100 ml.

A cromatografia em pontos mostrou que as frações de 4 a 11 apresentaram manchas correspondentes a flavonóides. Após cromatografia em faixas muitas frações foram reunidas, resultando em 4.1, 4.2, 5.1, 5.2, 8.3, 9.2, 9.3, 9.4. Estas frações foram purificadas em Sephadex LH - 20, apresentando as frações 4.1.1, 4.1.2, 4.2, 5.1, 5.2, 8.3, 9.2, 9.3, e 9.4; cujos Rf constam na tabela 3. As frações que apresentaram quantidades suficientes para prosseguir a análise foram 8.3 e 9.4. A tabela 4 mostra os valores do espectro de UV dos glicosídeos de 8.3 e 9.4. Os valores da Banda I correspondem aos de uma flavona, que apresenta caracteristicamente comprimento de onda entre 310 - 350nm..

TABELA 3 Dados de cromatografia em papel de flavonóides obtidos do extrato foliar de *Plantago major* L.

Frações	Rf (x 100)	
	BAW	OHAc 15%
4.1.1*	—	—
4.1.2*	—	—
4.2#	70 e 78	50
5.1#	61 e 77	39 e 49
5.2	62	41
8.3	63	41
9.2*	—	—
9.3	60	35
9.4	60	23

* Não foram detectados após cromatografia em papel

apresentaram 2 manchas após purificação em coluna de Sephadex LH 20

Os espectros em $AlCl_3$ e $AlCl_3 / HCl$ (Figura 9B) mostram que houve a formação de complexo com $AlCl_3$, o qual foi liberado pelo HCl , indicando a presença de di-ortohidroxilas no anel B, tratando-se portanto de derivado luteolínico. A ausência de uma terceira banda em KOH das frações 8.3 e 9.4 após hidrólise, levou à conclusão de que a posição 7 no anel A não estava livre (Figura 9).

TABELA 4 Dados espectrais de UV de flavonóides do extrato foliar de *Plantago major* (λ_{max})

Frações	MeOH	MeOH/KOH	$AlCl_3$	$AlCl_3 / HCl$	# Glicosídeos
8.3 #	345,50	380,50	—	—	—
8.4 *	271,00	303,50	—	—	—
	257,00	266,50	—	—	—
	346,50	391,50	421,50	362,00	299,00
	270,50	271,50	301,50 (III)	277,00	—
	256,00	275,00	275,00	263,00 (ombro)	—
9.4 #	342,00	387,50	—	—	—
	367,00	302,50	—	—	—
	253,00	257,50	—	—	—
9.4 *	337,00	338,50	413,50	396,50 (IA)	—
	283,00 (ombro)	283,00	302,00	351,00 (IB)	—
	267,00	267,00	273,00	299,50 (III)	—
	267,00	—	—	—	273,50

* Após a primeira hidrólise

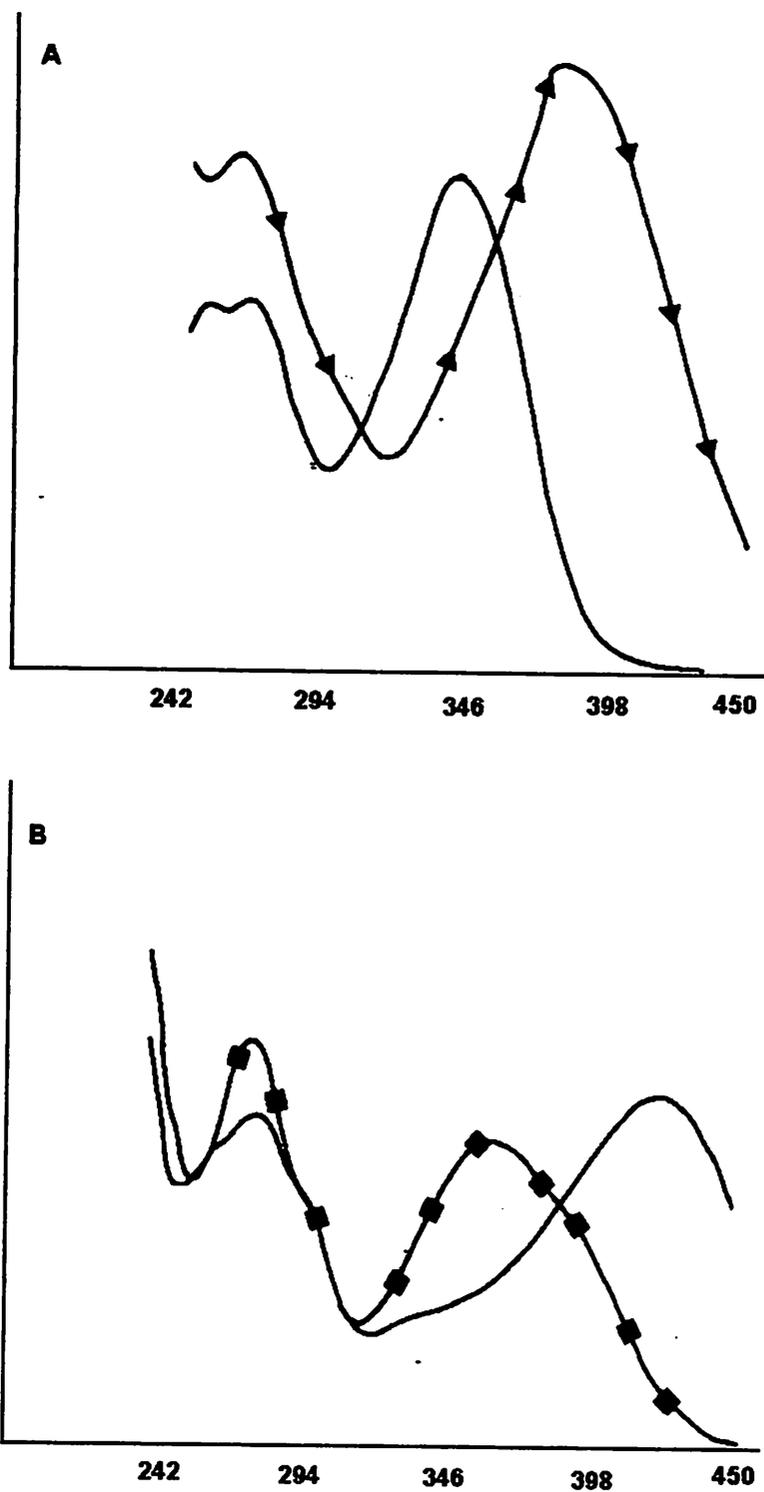


FIGURA 9 Espectros de absorção no UV de flavonóides foliares de *Plantago major* L (fração 8.3)

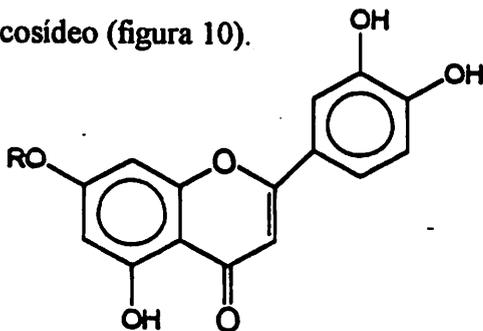
A - _____ MeOH ← ← MeOH/KOH
 B - _____ AlCl₃ — ■ — ■ AlCl₃ / HCl

Harborne e Williams (1975), descrevem para *Plantago* uma flavona com ácido glicurônico na posição 7 (escutelarina). Segundo Harborne (1967), glicosídios de flavonas com o açúcar ligado na posição 7 são mais resistentes à hidrólise ácida do que os glicosídios de flavonóis. Apigenina 7-O-glucuronide é excepcionalmente resistente e só é hidrolisada completamente após 4 horas em 1 N HCl - EtOH (1:1) a 100 °C .

Procedendo -se uma CP em OHAc 15% das possíveis agliconas, verificou-se que a hidrólise não havia se efetuado, pois as mesmas apresentaram os mesmos Rf dos glicosídeos. Desta maneira, procedeu-se uma segunda hidrólise das mesmas frações com HCl 2N a 100 °C por 2 horas. Na cromatografia em papel com ácido acético 15% elas ficaram na origem, apresentando coloração púrpura sob luz UV, indicativo de flavona (aglicona).

Na cromatografia dos açúcares oriundos da primeira hidrólise, obteve-se glicose para a fração 8.3. No cromatograma dos açúcares obtidos da segunda hidrólise, observou - se 2 pontos característicos de ácido glicurônico hidrolisado para ambas as frações.

Portanto, sugere-se que os flavonóides são glicosídeos de luteolina baseados em glicose e ácido glicurônico . Pelos valores de Rf, sugere-se que ocorra em *Plantago major* , diglicosídeos e monoglicosídeos de luteolina, sendo provavelmente luteolina 7-O-glucuronídeo e luteolina- 7-O-glucuronil-glicosídeo (figura 10).



1. Luteolina-7-O-glucuronídeo: R= ácido glicurônico
2. Luteolina-7-O-glucuronilglicosídeo: R= ácido glicurônico-glicose.

FIGURA 10 Estruturas de flavonóides de *Plantago major* (fração 8.3)

Encontra-se em andamento a repetição desta análise, com extrato oriundo de maior quantidade de material seco para confirmar os dados obtidos utilizando-se de técnicas adicionais.

Um fato que ressalta a interrelação entre metabolismo primário e secundário é a ocorrência de glicosídeos com ácidos urônicos, pois a espécie analisada apresenta mucilagens nas folhas, sítio de acúmulo de flavonóides, com presença de ácido glicurônico.

Flavonóides compostos pela aglicona encontrada nesta espécie podem inibir certos estágios inflamatórios e até artrite crônica (Pathak, Pathak e Singla, 1991), sendo, um bom indicativo de que os flavonóides podem ser os principais princípios ativos em *Plantago major*.

4.3.2 Análise de mucilagens

O rendimento das mucilagens de plantas mantidas em fotoperíodos de 8 horas, 16 horas e natural foram 0,666 g, 1,204 e 0,322 respectivamente.

No fotoperíodo de 8 horas não foi observado florescimento, processo que mobiliza grande quantidade de proteínas e açúcares, assim, no fotoperíodo natural e de 16 horas houve um gasto de energia maior devido a produção de inflorescência. Por outro lado, a exposição a luz em um intervalo de tempo maior possibilitou um aumento na taxa de produção de metabólitos via fotossíntese.

No fotoperíodo natural, o conteúdo de açúcares foi menor devido a floração, no entanto no fotoperíodo de 16 horas possibilitou um conteúdo maior de açúcares nas mucilagens, apesar dos gastos com a floração. Na condição de 8 horas o acúmulo de açúcares pode ser devido ao fato das plantas permanecerem em estado vegetativo. Dudai et al (1992), relata que o efeito de

um determinado fator ambiental pode ser indireto, por alterar a fase de desenvolvimento da planta de vegetativa para reprodutiva.

O estudo de efeitos de fatores ambientais está constantemente sujeito a interações; no entanto, o aumento na área foliar bem como o aumento no número de folhas constituem respostas tipicamente fotoperiódicas (Hedley e Harvey, 1975; Alvarenga, 1987).

Floração e tuberização são processos mais estudados com relação ao fotoperíodo. Pouco se conhece sobre o efeito do fotoperíodo nos níveis de compostos secundários e mucilagens. Apenas alguns trabalhos relatam sobre o efeito da variação sazonal e fotoperíodo no conteúdo de óleos essenciais (Delitala et al, 1983; Cabo, Crespo e Jimenez, 1987; Pitarevic, Blazevic e Kustrak, 1984).

A temperatura e a luz têm profundo efeito sobre a composição e conteúdo de óleos essenciais, entretanto não é claro se o efeito da luz é fotoperiódico ou via fotossíntese (Burbotte e Loomis, 1967). Em *Origanum syriacum*, foi observado que além do efeito fotossintético, há também o efeito fotoperiódico atuando sobre o conteúdo de óleos essenciais, observado após complementação do comprimento do dia com luz incandescente de baixa irradiância (Dudai et al, 1992).

A produção de mucilagens, que são compostos oriundos do metabolismo primário, pode estar intimamente ligada a produção de açúcares pelas vias fotossintéticas, porém não se descarta a hipótese de que o acúmulo possa sofrer efeito adicional do fotoperíodo, por se ter observado maior quantidade de mucilagens no fotoperíodo de 16 horas.

A análise qualitativa da mucilagem das folhas de *Plantago major*, mantidas em condições de fotoperíodo natural apresentou como açúcares constitutivos o ácido glicurônico,

galactose e arabinose. Quanto a composição de açúcares as mucilagens de folhas de *Plantago* diferem geralmente das de sementes, onde as mesmas se apresentam em maior quantidade. Em sementes, Tomoda et al (1987), apresentou os monômeros da estrutura da mucilagem de *Plantago asiática* composta de xilopiranosose, arabinofuranose, ácido glicopiranosil urônico e ácido galactopiranosil urônico.

Tendo em vista, que a população utiliza sempre a folha de *Plantago* e não as sementes, provavelmente essas mucilagens, com ação antiinflamatória e antidiabética (Tomoda, et al, 1987) devem ocorrer nas folhas. O prosseguimento do estudo é fundamental para caracterizar e identificar a estrutura do polissacarídeo em questão.

5 CONCLUSÕES

- a) As sementes de *Bauhinia forficata* Link apresentaram maior percentagem de germinação sob temperaturas alternadas de 30 - 20 ° C e se mostraram indiferentes a luz
- b) As sementes de *Plantago major* L. mostraram fotoblastismo positivo e maior percentagem de germinação em temperaturas alternadas de 30 - 20 ° C.
- c) No extrato foliar de *Bauhinia forficata* Link foi detectada a presença de flavonóides identificados como canferol 3 - O- (gli-xil-rham) e canferol 3 - O- (gli-ram). Não foi detectada a presença de taninos e alcalóides.
- d) O extrato foliar de *Plantago major* L apresentou os flavonóides possivelmente identificados como luteolina 7 -O-(ác. glic- gli) e luteolina 7 -O- ácido glicurônico. As folhas de *P. major* cultivadas sob fotoperíodo de 16 horas apresentaram maior teor de mucilagem, cujos açúcares constitutivos são ácido glicurônico, galactose e arabinose.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABD-EL-WAHAB, S.M.; WASSEL, G. M.; AMMAR, N. M.; HANNA, T. Flavonoids constituents in the different organs of selected *Bauhinia* and their effect on blood glucose. *Herba Hung, Egypt*, v.26, n.1, p.27 - 39, 1987.
- ACHENBACH, H.; STOCHER, M.; CONSTENLA, M. Flavonoids and other constituents of *Bauhinia manca*. *Phytochemistry, Elmsford*, v.27, n.6, p.1835 - 1841, 1988
- AKHILA, A.; TYAGI, B. R.; NAQVI, A. Variation of essential oil constituents in *Cymbopogon martinii* Wats (var. motia) at different stages of plant growth. *Indian Perfumer, Jammu-Tawi*, v.28, n.3/4, p.126-128, 1984.
- ALAM, M. M.; SIDDIQUI, M. B.; HUSAIN, W. Treatment of diabetes through herbal drug in rural India. *Fitoterapia, Itália*, v.61, n.3, p.240-242, 1990.
- ALCARAZ, M. J.; JIMÉNEZ, M. J. Flavonoids as antiinflammatory agents. *Fitoterapia, Itália*, v.59, n.1, p.25-38, 1988.
- ALVARENGA, A. A. Estudo de alguns aspectos do desenvolvimento do feijão jacatupé [*Pachyrrhizus tuberosus* (Lam.) Spreng]. Campinas: UNICAMP, 1987. 173 p (Tese - Doutorado em Fisiologia Vegetal).

- ANJANEYULU, A. S. R. Pacharin : a new dibenzeno (2,3 - 6,7)oxepin derivated of *B. racemosa* Lamk *Tetrahedron*, New York, v. 40, n.21, p.4245-4252, 1984.
- ARRIGONI, M. F. Fenologia e germinação da casaqueira [*Campomanesia rufa* (Berg) Nied]: uma fruteira dos cerrados. Lavras: ESAL, 1993. 58 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal).
- ATTA- UR-RAHAMN; ZAMAN, K. Medicinal plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, Ireland, v. 27, n. 4, p. 1- 55, 1989.
- BASKIN, C. C.; BASKIN, J. M. Germination ecophysiology of herbaceous plant species in a temperate region. *American Journal of Botany*, Columbus, v.75, n.2, p.286-305, 1988.
- BEWLEY, J. D.; BLACK, M. *Seeds: Physiology of development germination* 2.ed. London: Renum Presss, 1994. 445 p.
- BORGES, E. E. L.; RENA, A.B. Germinação de sementes. In: AGUIAR, I. B.; PINÃ-RODRIGUES, F. C. M.; FIGLIOLA, M. B. *Sementes florestais tropicais*. Brasília: ABRATES, 1993. p.83-135.
- BURAPADAJA, S.; BUNCHOO, A. Antimicrobial activity of tannins from *Terminalia citrina* *Planta Medica*, Stuttgart, v.61, n. 5, p.365-366, 1995.
- BURBOTT, A. J.; LOOMIS, W. D. Effect of light and temperature on the monoterpenes of peppermint. *Plant Physiology*, Maryland, v.42, n.1/4, p.20-28, 1967.
- CABO, J.; CRESPO, M. E. JIMENEZ, J. Seasonal variation of essencial oil and composition of *Thymus hiemalis*. *Planta Médica*, Stuttgart, v.53, n.4, p.380-382, 1987.

- CARDOSO, V. J. M. Temperatura e germinação de 3 espécies de *Sida* (Malvaceae). In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL, 2, Piracicaba, 1989, Anais...Piracicaba: USP-ESALQ, 1989. p.161.
- CARTEIRA DO COMÉRCIO EXTERIOR. Brasília: Ministério da Economia, 1984. n. p.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 429 p.
- CHARLES, D. J.; JOLY, R. J.; SIMON, J. E. Effects of osmotic stress on the essential oil content and composition of peppermint. *Phytochemistry*, elmsford, v.29, n.9, p.2837-2840, 1990.
- CHEN, Q. M.; XIE, M. Z. Studies on the hypoglycemic effect of *Captis chinensis* and berberine, *Acta Pharmaceutica Sínica*, v. 21, p. 401-406. In: BIOLOGICAL ABSTRACTS, Philadelphia, v. 83, n. 7, p. AB860, 1987. (abst. 68309)
- CONN, E. E.; STUMPF, P.K. *The Biochemistry of Plants: a comprehensive treatise*. New York: Academic Press, 1981. 798 p. (Secondary Plant Products, v. 7)
- COSTA, A. F. *Farmacognosia*. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1978. v. 2, 1117p.
- COSTA, O. A. Estudo farmacológico da unha de vaca - *Bauhinia forficata* Link. *Revista da Flora Medicinal*, Rio de Janeiro, v. 9, n. 4, p. 175-189. (Congresso Brasileiro de Farmácia, 3, RJ).
- COSTA, O. A. Plantas hipoglicemiantes brasileiras *Leandra*, Rio de Janeiro, v. 5, n.6, p.95 - 106, 1975.

- CRUZ, G. L. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro, 3.ed.: Civilização brasileira.,1985. 599p.
- CUNHA,R.; CASALI, V. W. D. Efeito de substâncias reguladoras de crescimento sobre a germinação de sementes de alface. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.1, n.2, p.121-132, 1989.
- DAKORA, F. D. Plant flavonoids: biological molecules for useful exploitation. **Australian Journal of Plant Physiology**, Victoria, v.22, n. 1, p.87-99, 1995.
- DELITALA, L. F.; GESSA, C.; SOLINAS, V.; FALCHI-DELITALA, L. Stress hídrico e flexibilidade del metabolismo fenólico in *Thymus capitatus*. **Fitoterapia**, Itália, v.56, n.6, p.401-408, 1986.
- DELITALA, L. F.; SOLINAS, V.; GESSA, C.; FALCHI-DELITALA, L. Seasonal quantitative and variation in the essential oils and phenols in *Thymus c/apitatus* Hofmgg and in *Thymus herba-barone* Loisel. **Fitoterapia**, Itália, v.54, n.2, p.87-96, 1983.
- DEY,B.B.; CHOUDHURI, M.A. Effect of application of N, P and K on the growth and yield of essential oil and eugenol in *Ocimum sanctum* L. **Pafai-Journal**, v.6, n.1, p.20-24, 1984.
- DUDAI, N.; PUTIEVSKY, E.; RAVID, U.; PALEVITCH, D.; HALEVY, A. H. Monoterpene content in *Origanum syriacum* as affected by environmental conditions and flowering .**Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.84, n. 2, p.453-459, 1992.
- EL-KELTÁWI, N. E.; CROTEAU, R. Influence of foliar applied citokinins on growth and essential oil content of several members of the Lamiaceae. **Phytochemistry**, Elmsford, v.26, n.4, p.891-895, 1987a.

- ERASMUS, D. J.; VAN STADEN, J. Germination of *Chromolaena odorata* (L) K & R. achenes: effect of temperature, imbibition and light. **Weed Research**, Oxford v.26, n.2, p.75-81, 1986.
- FARNSWORTH, N.R.; SOERJATO, D.D. Potencial consequence of plant extinction in the United States on the current and future availability of prescription drugs. **Economic Botany**, New York, v.39, n. 3, p.231-234, 1985.
- FEIBERT, E. B.; LANGENHEIM, J. H. Leaf Resin variation in *Copaifera langsdorfii*: relation to irradiance and herbivory. **Phytochemistry**, Elmsford, v.27, n.8, p.2527-2532, 1988.
- FELIPPE, G. M.; SILVA, J. C. S.; Estudos de germinação em espécies do cerrado. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.7, n.2, p.157-167, 1984.
- FOSTER, S. A. On adaptative value of large seeds for tropical moist forest trees: a review and synthesis. **Botanical Review**, New York, v.52, n. 1, p.260-299, 1986.
- GEISSMAN, T. A.; CROUT, D. H. G. **Organic chemistry of secondary plant metabolism**. California: Freeman, Cooper and Company, 1969. 592 p.
- GOMES, F. P. **Curso de estatística experimental** 12 ed. Piracicaba: Nobel, 1987. 467 p.
- GRELLA, G. E.; PICCI, V. Seasonal variations in essential oil of *Salvia officinalis*. **Fitoterapia**, Itália, v.59, n.2, p.97-102, 1988.
- GUPTA, A.K.; VIDYAPATI, T.J.; CHAUHAN, J.S. Chemical examination of the stem of *Bauhinia variegata*. **Planta Médica**, Stuttgart, v.38, n. 2, p.174-176, 1980.

- HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v.13, n. 3, p. 437-449, 1987.
- HAHLBROCK, K. Flavonoids In: CONN, E.E.(ed). **The biochemistry of plants.Secondary plant products**. New York: Academic Press, 1981. v.7, p. 425-456.
- HARBORNE, J. B. **Comparative biochemistry of the flavonoids**. London: Academic Press, 1967. 350 p.
- HARBORNE, J. B. **Introduction to ecological biochemistry**. 3.ed. London: Academic press, 1988. 356 p.
- HARBORNE, J. B. **Phytochemical Methods (A guide to modern techniques of plant analysis)** 2 ed. London: Chapman and Hall, 1984. 288p.
- HARBORNE, J.B. Variation and functional significance of phenolic conjugation in plants. **Recent adv. Phytochemistry**, Elmsford, v.12 p. 457-475, 1979.
- HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J. (eds) **The flavonoids: advances in research**.New York: Chapman and Hall Ltda, 1982. 327 p.
- HARBORNE, J. B.; WILLIAMS, C. Flavone and flavonol glycosides. In: HARBORNE, J. B.; MABRY, T. J; MABRY, H. (eds) **The flavonoids**. New York: Academic Press, 1975. p. 376 - 441.
- HAYES, R. G.; KLEIN, W. H. Spectral quality influence of light during development of *Arabidopsis thaliana* plants in regulating seed germination. **Plant and Cell Physiology**, Kyoto, v. 15, n. 4, p.643-653, 1974.

- HEDLLY, C. L.; HARVEY, D. M. Variation in the fotoperiodic control of flowering of two cultivars of *antirrhinum majus* L. **Annals of Botany**, London, v.39, n. 4/6, p. 257-263, 1975.
- HEYDECKER, W.; HIGGINS, J.; GULLIVER, R. L. Accelerated germinatin by osmotic seed treatment. **Nature**, London, v.246, n. 1, p.42-44, 1975.
- HOLM, Y.; GALAMBOSI, B.; HILTUNEM, R. Variation of main terpenes in dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) during growth. **Flavour and Fragance Journal**, New York, v.3, n.3, p.113-115, 1988.
- IRIBARREN, A.M.;POMÍLIO, A. B. Sitosterol 3-O- α -D-xyluronofuranoside from *Bauhinia candicans*. **Phytochemistry**, Elmsford, v.26, n.3, p.857-858, 1987.
- IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plant as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 27, n. 3, p. 243 - 275, 1989.
- JENELTEN, U.; FELLER, U. Mineral nutrition of *Arnica montana* L and *Arnica camissonis* ssp foliosa manguire: diferences in the cation acquisition **Journal of Plant Nutrition**, New York, v.15, n.11, p.2351-2361, 1992.
- JOGIA, M. K. Essential oil composition at different satages of growrth in two Fiji ocimuns, **Fiji Agricultural Journal**, Suva, v.46, n.2, p.9-12, 1984.
- JULIANI, C. Ação hypoglycemiante da “Unha de vaca” (*Bauhinia forficata*) . **Jornal dos clínicos**, Rio de Janeiro, v.12, n.12, p. 165 - 169, 1931.

- KARAWYA, M. S.; ABD- EL- WAHAB, S. M.; EL-OLEMY, M. M.; FARRAG, N. M. Diphenilamine, an antihyperglycemic agent from onion and tea. **Journal of Natural Products**, Pittsburg, v. 47, n. 5, p. 775-780, 1984
- KENDRICK, R. E.; KRONEMBERG, G. H. M. (eds) **Photomorphogenesis in plants** New York: Martinus, 1986. 580p.
- KENDRICK, R.E.; SPRUIT, C. J. P.; FRANKLAND, B. Phytochrome in seeds of *Amaranthus caudatus*, **Planta**, New York, v. 87, n. 1, p. 293-302, 1969.
- KHOSA, R. L.; PANDEY, V. B.; SINGH, J. P. Experimental studies on *Zizyphus rugosa* (Lam) bark. **Indian Drugs**, v.20, n. 6, p. 241. In: **CHEMICAL ABSTRACT**, Washington, v.99, n. 13, p. 57, 1983. (abst. 99117).
- KUMAR, R.J.; DAVID, G. L.; KRUPADANAM, M. Phenolic constituents from the pods of *Bauhinia vahlii*. **Fitoterapia**, Itália, v.61, n.5, 456 - 460, 1990.
- KUPCHAN, S. M.; SIGEL, C. W.; KNOX, J. R.; UDAYAMURTHY, M. D. Tumor inhibitors. Eupatin and eupatoretin, two citotoxic flavonols from *Eupatorium semiserratum*. **Journal of Organic Chemistry**, Lausanne, v.34, n. 3, p. 1460-1463, 1969.
- LABORIAU, L.G. Seed germination as a termobiological problem. **Radiation and Environmental Biophysics**, New York, v.15, n. 3, p.345-366, 1978.
- LABORIAU, L. G.; AGUDO, M. On the physiology of seed germination in *Salvia hispanica* L. I. Temperature effects. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v.59, n.1, p. 37-56, 1987.

- LABORIAU, M. L. S. A semente de *Magonia pubescens* St. Hill - morfologia e germinação. **Anais da Academia Brasileira de Ciência**, Rio de Janeiro, v.45, n.3/4, p.501-537, 1973.
- LADEIRA, A. M.; CHU, E. P.; MAYWORM, M. A. S.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. L. Seeds of *Dioscorea delicata* and *D. olfersiana*: germination and reserve compounds **Hoehnea**, São Paulo, v.19, n.1/2, p.135-142, 1992.
- LADEIRA, A. M.; ZAIDAN, L.B.P.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R. C. I. *Ageratum conyzoides* L (Compositae): germinação, floração e ocorrência de derivados fenólicos em diferentes estádios de desenvolvimento. **Hoehnea**, São Paulo, n.14, p.53-62, 1987.
- LAURA, V. A. Germinação de sementes de calabura (*Muntingia calabura*) Lavras: ESAL 1993. 45 p. (Dissertação - Mestrado em Fisiologia Vegetal)
- LAUX, D.O.; STEFANI, G. M.; GOTTLIEB, O. R.; Bausplendin, a dimethylenedioxy flavone from *Bauhinia splendens*. **Phytochemistry**, Elmsford, v.24, n.5, p.1081 -1084, 1985.
- LI, B-Q; FU, T.; YAN, Y-D.; BAYLOR, N. W.; RUSCETTI, R. W.; KUNG, H-F. Inhibition of HIV infection by baicalin, a flavonoid compound purified from chinese herbal medicine. **Cellular and Molecular Biology Research**, New York, v.39, p.119-124, 1993.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992. 352p.
- MABRY, T.J.; MARKHAM, K. R.; THOMAS, M. B. **The sistematic identification of flavonoids**. New York : Springer-Verlag, 1970. 370 p.

- MAIDA, E. C.; LADEIRA, A. M. Germinação e inibidores em solanáceas nativas. In: REUNIÃO BRASILEIRA DE FISILOGIA VEGETAL, 2, Piracicaba, 1989. Anais... Piracicaba: USP-ESALQ, 1989. p.142.
- MALHOTRA, A.; MURTI, V. V. S.; SESHADRI, T. R. Chemicals components of *Dalbergia lanceolaria* (flowers and leaves). *Current Science*, New Delhi, v.36, n. 1, p.484, 1967.
- MARKHAM, K. R. *Techniques of flavonoids identification* London: Academic press, 1982, 113p.
- MATOS, F. J. A. *Introdução fitoquímica experimental*. Fortaleza: UFC 1988. 128p.
- MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. *The germination of seeds*. New York: Pergamon Press, 1989. 210 p.
- McNEIL, D. L. Factors affecting the field establishment of *Plantago ovata* Forsk, in Northern Australia *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.66, n.2, p. 98-104, 1989.
- McNEIL, D. L.; DURAN, R. S. Effects of pre-germination treatments on seedling establishment and development of *Plantago ovata* Forsk. *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.69, n.3, p. 229 - 234, 1991.
- MERCIER, H.; GUERREIRO FILHO, O. Propagação sexuada de algumas espécies nativas da mata atlântica: efeito da luz e da temperatura na germinação. *Hoehnea*, São Paulo, v.17, n.2, p.19-26, 1990.
- MING, L. C. *Influência de diferentes níveis de adubação orgânica na produção de biomassa e teor de óleos essenciais de Lippia alba -Verbenaceae*. Curitiba: UFPR, 1992, 206 p (Tese - Mestrado em fitotecnia).

- MITSUBISHI CHEMICAL INDUSTRIES CO LTDA Lathyrines as hypoglycemics. **Jpn Kokai Tokyo Koho**, Japan, v. 35, n. 1, p. 514, 1982 In: **CHEMICAL ABSTRACTS**, Washington, v. 97, n. 6, p. 636, 1982. (abst. 33380).
- MITSUHASHI, H. (ed.) **Illustrated Medicinal. Plants of the World in Colour**. Tokyo: Hokuryukan, 1988. 449p.
- MODI, S. M.; MEHTA, K. G.; GUPTA, R. Isabgol a dollar earner of North Gujarat **Indian Farming**, New Delhi, v.23, n.10, p.17-19, 1974.
- MONTEIRO, F.; HERRERA, J.; ALIZAGA, R. Effect of giberelic acid and prechilling on dormancy braking in snapdragon (*Antirrhinum majus*) seeds. **Agronomia-Costarricense**, San José, v,14, n.1, p.55-60, 1990.
- NIEMANN, G. J. e BREDERODE, J. V. Separation of glycoflavones and their glycosides by high performance liquid cromatography **Journal of Cromatography**, Amsterdam, v.152, n. 3, p.523 - 527, 1978.
- NKUNYA, M. H. H.; WAIBEL, R.; ACHENBACH, H. Three flavonoids from the stem bark of the antimalarial *Uvaria dependens* **Phytochemistry**, Elmsford, v.34, n. 3, p.853-856, 1993.
- OLIVEIRA, F.; BACCHI, E.M. Considerações a respeito de algumas plantas medicinais brasileiras. **Anais de Farmácia e Química**, São Paulo, v.20, n.2, p.325-335, 1980.
- PATEL, N. K.; SRIRAN, S.; DALAL, K. C. Proceedings of medicinal and aromatic plants. **Indore**, v. 65, n. 1, p.21-24, 1978. (All India Workshop, Indore, 3).
- PATHAK, D.; PATHAK, K.; SINGLA, A. K. Flavonoids as medicinal agents - Recent advances **Fitoterapia**, Itália, v.62, n.5, p.371-389, 1991.

- PEREZ , S.C.J.G.A.; MORAES, J.A.P.V. Influência da temperatura, da interação temperatura - giberelina e do estresse térmico na germinação de *Prosopis juliflora*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v.2, n.1, p. 41 - 53, 1990.
- PIMPINI, F.; FILIPPINI, M.F.; GIANQUINTO, G. The influence of temperature and light on seed germination of radicchio (*Cichorium intybes* L. var. silvestre Bishoff). **Seed Science & Technology**, New Delhi, v.21, n. 1, p. 69 - 83, 1993.
- PITAREVIC, J.; BLAZEVIC, N.; KUSTRAK, D. Seasonal variation of essential oil yield and composition of Dalmatian sage *Salvia officinalis*. **Journal of Natural Products**, Columbus, v.47, n.3, p.409-412, 1984.
- PONS, T. L.; TOORN, J. van der Stablishment of *Plantago lanceolata* and *Plantago major* L. among grass I Significance of light for germination. **Oecologia**, Berlim, v.75, n.1, p.394-399, 1988.
- RADLEY, M. The role of gibberellin, abscisic acid, and auxinin the regulation of developing wheat grains. **Journal of Experimental Botany**, London, v. 30, n.116, p. 381-389, 1979.
- RAVN, H.; NISHIBE, S.; SASAHARA, M.; XUEBO, L. Phenolic compounds from *Plantago asiatica* **Phytochemistry**, Elmsford, v.29, n.11, p.3627-3631, 1990.
- ROBERTSON, K. R.; LEE, M. The genera of Caesalpinoideae (Leguminosae) in the Southeastern United States. **Journal of the Arnold Arboretum**, Cambridge, v.57, n. 1, p. 1 - 53 , 1976.

- RUMINSKE, A.; SUCHORSKA, K.; WEGLARZ, Z. D. Effect of giberrellic acid on seed germination of some vegetable and medicinal plants. *Acta Horticulturae*, The Hagui, v.73, n. 1, p.131-136, 1978.
- SAGAR, G.L.; HARPER, J.L. Biological flora of the British Isles *Plantago major* L., *P. media* L. and *P. lanceolata* L., *Journal of Ecology*, Oxford, v.54, n. 2, p.189-221, 1964.
- SALATINO, A. **Morfologia, anatomia e fitoquímica da folha de *Bauhinia holophylla* (Bongard) Steudel** São Paulo: USP, 1976.141 p. (Dissertação - Mestrado em Botânica)
- SCIUNCHETTI, L. A. Influence of gibberellic acid on medicinal plants. *Journal of Pharmaceutical Science*, Washington, v.50, n. 2, p.981-998, 1961.
- SHARMA, R. K.; SINGH, R. S.; BORDOLOI, D. N. Essential oil and its quality in *Mentha citrata* Ehrh under certain plant growth substances. *Indian Perfumer*, Jammu-Tawi, v.32, n.2, p.168-172, 1988.
- SIERAKOWISKI, M. R. **Alguns aspectos químicos, fisico-químicos e estruturais de mucilagem extraída de folhas de *Pereskia aculeata* Mill.** Curitiba: UFPR, 1982. 77p. (Dissertação - Mestrado em Botânica).
- SPIPKOVÁ, J.; HUBÍK, J. Biologische wirkungen von flavonoiden. *Pharmazie un unserer Zeit*, Weinheim, v.17, n.1, p. 1-9, 1988.
- SUN, D.; ZHAO, Z.; WONG, H.; FOO, L. Y. Tannins and others phenolics from *Myrica esculenta* bark *Phytochemistry*, Elmsford, v.27, n.2, p.579-583, 1988.
- SWAIN, T. Secondary compounds a protective agents. *Annual Review of Plant Phisiology*, Palo Alto, v.28, p. 479-501, 1977.

- SWAIN, T. Tannins and lignins. In: ROSENTHAL, G. A.; JANSEN, D. H.(eds) **Herbivores. Their interactions with secondary plant metabolites.** London: Academic Press, 1982. p.657-682.
- TANEJA, A.; BHAT, C. M.; ARORA, A.; KAUR, A. P. Effect of incorporation of Isabgol husk en a low fibre diet on faecal excretion and serum levels of lipids in adolescent girls **European Journal of Clinical Nutrition, Oxford, v.43, n. 5, p.197-202, 1989.**
- TAYLORSON, R. B.; HENDRICKS, S. B. Dormancy in seeds. **Annual Review of Plant Physiology, Palo Alto, v.28, p.331-354, 1977.**
- TOMODA, M.; SHIMIZU, N.; OSHIMA, Y.; TAKAHASHI, M.; MURAKAMI, M.; HIKINO, H. Hypoglycemic activity of twenty plant mucilages and three modified products. **Planta Medica, Stuttgart, v.53, n. 1, p.8-12, 1987.**
- TOMS, G. C.; WESTERN, A. Phytohemagglutinins. In: HARBORNE, J. B.; BOULTER, D.; TURNER, B. L. **Chemotaxonomy of the Leguminosae.** London: Academic press, 1971. p. 312 - 357.
- TREASE, G. E.; EVANS, W. C. **Pharmacognosy.** 13 ed. Lisboa: Bailliere Tindall, 1989. 805 p.
- TREVELYAN, N. E.; PROCTER, D. P.; HARRISON, J. S. Detection of sugars on paper chromatograms. **Nature, London, v.166, n. 1, p.444-445, 1950.**
- TURNER, I. M. Foliar defences and habitat adversiy of three woody plant communities in Singapore **Funcional Ecology, Oxford, v.9, n. 1, p.279-284, 1995.**

**TYLER, V.E.; BRADY, L. R.; ROBBE, J. E. Pharmacognosy. 9. ed. Filadelfia: Lea
Fepiger, 1988. 519 p.**

**VALLE, M. J. R.; VIEIRA, J. E.V.; AUCELIO, J. G.; VÁLIO, I. F. M. Influence of
photoperiodism on cannabinoid content of Cannabis sativa L. Bulletin on Narcotics,
New York, v.30, n.1, p. 67-68, 1978.**

VERMA, V. A textbook of Plant Physiology. London: The Macmillan Press, 1978. 530p.

**VICKERY, M.L.; VICKERY, B. Secondary Plant metabolism. London: The MacMillan
Press, 1981. 493 p.**

**VIEIRA, R. F. Espécies medicinais prioritárias para conservação.-levantamento
preliminar. Brasília: CENARGEN, 1993. 10 p. (Comunicado Técnico, 14)**

**WOLLENWEBER, E.; DIETZ, V. H. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones
in plants. Phytochemistry, Elmsford, v.20, n.5, p. 869-932, 1981.**

**YOUSIF, G.; ISKANDER, G. M.; EISA, E. B. Investigation of the alkaloidal components in
the Sudan flora Fitoterapia, Itália, v.54, n.2, p. 81 - 85, 1983.**



BRADY, I. R. & OBER, J. E. *Pharmacology of the Adrenal Gland*. London: Chapman & Hall, 1978. 219 p.

VIEIRA, J. J. V.; AUCELLO, J. G.; VAILLO, I. F. M. Influence of the opoid on the content of GABA in the rat brain. *Neuropharmacology*, 1978, v. 17, n. 1, p. 67-68.

FERMA, V. *A textbook of Plant Physiology*. London: The Macmillan Press, 1978. 310 p.

VICKERY, M. L.; VICKERY, B. *Secondary Plant Metabolites*. London: The Macmillan Press, 1981. 493 p.

FERA, R. K. Efectos de la cafeína en el sistema nervioso central. *Revista Brasileira de Farmacologia*, 1973, 10 p. (Comunicado Técnico 14)

WILLIAMS, E.; DIETZ, V. H. Occurrence and distribution of free flavonoid aglycones in plants. *Phytochemistry*, 1970, v. 9, n. 3, p. 869-932.

OSKIN, G.; ISKANDER, G. M.; HISA, E. B. Investigation of the aldehydic component in the Sudanese *Thespesia* spp. *Phytochemistry*, 1973, v. 12, n. 1, p. 81-82.