

Avaliação das atividades antioxidante, anti e pró-hemolítica do extrato etanólico das folhas de *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae)

PASQUINI-NETTO, H.¹; MANENTE, F.A.¹; MOURA, E.L.¹; REGASINI, L.O.²; PINTO, M.E.F.²; BOLZANI, V.S.²; OLIVEIRA, O.M.M.F.²; VELLOSA, J.C.R.^{1*}

¹Universidade Estadual de Ponta Grossa, Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, Ponta Grossa-Brasil *josevellosa@yahoo.com.br ²Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Química de Araraquara, Departamento de Biotecnologia e Bioquímica e Departamento de Química Orgânica, Araraquara-Brasil

RESUMO: A pesquisa de produtos naturais permite a descoberta de novos princípios ativos, ou ainda, a descoberta de novas atividades para extratos de plantas (amplamente utilizados pela população brasileira) e princípios ativos naturais já conhecidos. *Pterogyne nitens* é uma planta cuja descrição das atividades é relativamente recente e, portanto, tem no extrato bruto boa fonte para pesquisas na área de produtos naturais. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi estudar o perfil antioxidante do extrato bruto etanólico das folhas de *P. nitens* e possível interferência sobre a hemólise provocada pelo radical AAPH[•]. No estudo da ação antioxidante das espécies estudadas, ABTS^{•+}, DPPH[•], H₂O₂ e HOCl, encontrou-se os valores de IC₅₀ de 5,0 µg mL⁻¹, 17 µg mL⁻¹, sem ação e 3,9 µg mL⁻¹, respectivamente, valores relativamente baixos e que indicam bom potencial antioxidante. Foram encontradas atividades pró-hemolítica e anti-hemolítica para o extrato de forma concentração-dependente. O extrato estudado mostrou boa fonte de moléculas naturais com potencial de ação biológica.

Palavras-chave: *Pterogyne nitens*, dano oxidativo, radicais livres

ABSTRACT: Evaluation of antioxidant, anti- and pro-hemolytic activities of ethanol extract from the leaves of *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae). The search for natural products as a widespread practice enables the discovery of new active principles, or the discovery of new activities for plant extracts (extensively used by the population) and natural active principles already known. *Pterogyne nitens* is a plant whose descriptions of activities are relatively recent and therefore has in its crude extract a good source for research in the field of natural products. Thus, the aim of this study was to evaluate the antioxidant profile of crude ethanol extract from *P. nitens* leaves and a possible influence on the hemolysis caused by AAPH[•] radical. For the studied oxidant species, ABTS^{•+}, DPPH[•], HOCl and H₂O₂, the IC₅₀ values were found of 5.0 µg mL⁻¹, 17 µg mL⁻¹, no action at all, and 3.9 µg mL⁻¹, respectively, relatively low values, indicating a good antioxidant potential. Pro- and anti-hemolytic activities were found for the extract in a concentration-dependent way. The studied extract showed to be a good source of natural molecules with potential biological action.

Key words: *Pterogyne nitens*, oxidative damage, free radicals

INTRODUÇÃO

Pterogyne nitens Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae) é uma espécie vegetal que habita o Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica e se encontra com risco de extinção, fazendo parte da lista de espécies arbóreas recomendadas para conservação genética no Estado de São Paulo (Carvalho, 1994). Esta espécie pode ser encontrada também nas regiões Nordeste (Ceará) e Sul (Paraná) do Brasil, além de ocorrer em

outros países da América do Sul, tais como a Argentina e o Paraguai (Nassif, 2000). Esta é a única espécie do gênero, sendo conhecida popularmente como "amendoim-do-campo", "bálsamo", "vi-raró", "cocal", "tipa" ou "amendoim-bravo". A madeira de *P. nitens* apresenta-se moderadamente densa e com relativa resistência física, sendo amplamente empregada na construção civil (Carvalho, 1994).

Recebido para publicação em 19/05/2011

Aceito para publicação em 12/03/2011

P. nitens possui valor ornamental, devido à beleza e odor das flores, com folhagem brilhante e frutificação que varia de tons à medida que amadurecem, são recomendadas para arborização de vias urbanas e rodovias e na reposição de mata ciliar em locais com inundações periódicas (Lorenzi, 1998). O lenho de *P. nitens* apresenta seiva rósea e o preparado aquoso do “pó-de-serra” tem coloração roxa, sendo muito utilizado na tinturaria (Carvalho, 1994).

Contudo, existem relatos limitados das aplicações medicinais e da composição química de *P. nitens*. Segundo os levantamentos etnofarmacológicos de Crivos et al. (2007), em comunidades guaranis do nordeste da Argentina, as cascas do caule possuem ação anti-helmíntica contra o “tacho”, nome popular de *Ascaris lumbricoides*.

Interessante estratégia na pesquisa de produtos naturais é direcionar o estudo do isolamento de substâncias por meio da atividade. Para tanto, os extratos vegetais são fracionados e as frações são testadas em ensaios biológicos. Aquelas tidas como positivas são, então, encaminhadas para o processo de isolamento e purificação. Essa investigação evidencia estudos que se dizem biodirigidos ou, também denominados, bioguiados.

Os estudos fitoquímicos biodirigidos/bioguiados com *P. nitens* tem indicado a presença de alcalóides guanidínicos com atividade citotóxica frente a inúmeras linhagens celulares de mama, melanoma e leucemia (Bolzani et al., 1995; Regasini et al., 2007, 2009a). Outros alcalóides de estrutura química similar a esses foram isolados de *P. nitens* e demonstraram atividade antifúngica contra fungos oportunistas humanos (Regasini et al., 2010). Compostos fenólicos, incluindo flavonóides (Regasini et al., 2008a) e derivados de ácido gálico (Regasini et al., 2008b), foram descritos como constituintes de *P. nitens*, bem como se mostraram inibidores potentes de mieloperoxidase (MPO), uma enzima pró-inflamatória (Fernandes et al., 2008; Regasini et al., 2008c). Esteróides e triterpenos também foram identificados em inúmeras partes de *P. nitens*, empregando Cromatografia Gasosa de Alta Resolução (Regasini et al., 2009b). Os estudos de bioprospecção investigaram o potencial biológico dos extratos de *P. nitens*, evidenciando inúmeras outras bioatividades, tais como, antidiabética (Souza et al., 2009, 2010), mutagênica (Oliveira et al., 2007) e antimutagênica (Ferreira et al., 2009).

Considerando o potencial biológico dos extratos e das substâncias isoladas de *P. nitens*, incluindo os flavonóides, compostos com ação antioxidante (Pietta, 2000), o presente estudo objetivou a avaliação das atividades antioxidante, anti- e pró-hemolítica do extrato etanólico obtido das folhas de *P. nitens*.

MATERIAL E MÉTODO

Material Vegetal e Extração

As folhas de *P. nitens* foram coletadas no Instituto Botânico, São Paulo-SP, Brasil, entre os meses de abril e maio de 2003, pela Dr^a Maria Cláudia Marx Young e identificadas como *Pterogyne nitens* Tul. (Fabaceae-Caesalpinioideae) pela Dr^a Inês Cordeiro do mesmo instituto. Uma exsiccata (SP204319) encontra-se depositada no herbário “Maria Eneida P. Kaufmann” do Instituto Botânico, São Paulo-SP, Brasil.

As folhas foram secas ao abrigo da luz por quatro semanas, sendo trituradas em moinho de facas. O pó seco e pulverizado (2,7 kg) foi submetido à maceração em hexano (cinco etapas com 2,0 L de solvente cada) durante cinco semanas. Posteriormente, a torta foi submetida à maceração em etanol (cinco etapas com 4,0 L de solvente cada). As soluções extrativas hexânicas e etanólicas, obtidas dos processos extrativos foram concentradas separadamente em evaporador rotatório, obtendo-se 3,6 g e 12,7 g dos extratos hexânico e etanólico, respectivamente. O extrato etanólico foi utilizado nos ensaios de atividade antioxidante, anti- e pró-hemolítica.

Ação scavenger sobre espécies reativas

Nos ensaios de ação direta sobre as espécies reativas foram construídas curvas concentração-resposta a partir das quais foram obtidos os valores de concentração das amostras (extrato e padrão/rutina) que promoveram inibição de 50% do sistema estudado (IC₅₀).

Ação scavenger sobre o radical ABTS^{•+}

Este ensaio foi realizado de acordo com Pellegrini et al. (1999), com pequenas modificações. O radical ABTS^{•+} é gerado a partir da reação do sal 2,2,2 -Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium (ABTS) com o persulfato de potássio (K₂S₂O₈). A atividade sequestradora de radicais pelas amostras foi realizada em tampão fosfato de sódio 10 mM (pH 7,0) e foi avaliada por meio do decréscimo da absorbância em 734 nm, comprimento em que se encontra o pico de absorção do radical (Velloso et al., 2007a).

Ação scavenger sobre o radical DPPH[•]

A atividade sequestradora de radicais livres do extrato foi avaliada em etanol, segundo Soares et al. (1997). A ação das amostras é evidenciada por meio do decréscimo da absorbância em 531 nm da solução de radical 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl 60 µM (DPPH[•]).

Ação scavenger sobre o peróxido de hidrogênio

A ação sequestradora de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelas amostras foi avaliada através da variação da absorbância em 412 nm, como resultado da oxidação do ácido 5-tio-2-nitrobenzóico (TNB) em ácido 5-5'-ditio-2-nitrobenzóico (DTNB), na presença de peróxido $100 \mu M$ (Velloso et al., 2007b).

Ação scavenger sobre o ácido hipocloroso

As reações foram feitas de acordo com Costa et al. (2004), com algumas modificações (Costa et al., 2004; Velloso et al., 2009). As reações foram realizadas em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,4. Procedeu-se incubação da amostra com ácido hipocloroso $30 \mu M$ (HOCl) durante 10 minutos e logo em seguida foi adicionada tetrametilbenzidina (TMB; 2,8 mM), revelador do HOCl remanescente em solução. Após 5 minutos, realizou-se a leitura da absorbância em 652 nm.

Dano provocado pelo radical AAPH em eritrócitos

Os testes foram realizados conforme protocolo de pesquisa 08766/10 aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da UEPG (parecer 68/2010). As hemácias utilizadas foram colhidas do sangue de voluntários sadios por punção venosa, separadas por centrifugação e lavadas sucessivamente com solução tampão fosfato de sódio 10 mM, pH 7,4 contendo NaCl 150 mM. A ação dos compostos sobre os eritrócitos foi avaliada tanto na ausência de radicais livres como na presença do radical 2,2,2-Azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride 25 mM (AAPH \cdot). Os ensaios foram realizados no mesmo tampão utilizado para lavagem

dos eritrócitos e a hemólise promovida foi avaliada pela liberação de hemoglobina pelas células (suspensão de eritrócitos 5%) após 2 horas e meia de incubação em $37^\circ C$. O grau de hemólise é proporcional à leitura da absorbância em 414 nm (Vissers et al., 1998; Yang et al., 2006).

RESULTADO E DISCUSSÃO

Ação scavenger sobre espécies reativas

Investigar a ação *scavenger* de espécies reativas por meio dos ensaios com ABTS \cdot^+ e DPPH \cdot traz vantagens por estes serem métodos rápidos e economicamente acessíveis. Os resultados da ação das amostras sobre ABTS \cdot^+ e DPPH \cdot estão apresentados nas Figuras 1 e 2 respectivamente, bem como, os valores de IC_{50} obtidos, são apresentados na Tabela 1.

Os extratos apresentaram IC_{50} de 5 e $17 \mu g mL^{-1}$ contra o ABTS \cdot^+ e DPPH \cdot , porém, para a rotina estes valores foram menores ($0,98$ e $1,55 \mu g mL^{-1}$, respectivamente), indicando o padrão como agente mais eficiente. Esses resultados são estabelecidos considerando que, quanto menores forem as concentrações das amostras necessárias para promoverem menores medidas de absorbâncias nos comprimentos de onda específicos, maior potencial *scavenger* de radicais livres é observado.

O ABTS \cdot^+ e o DPPH \cdot são radicais modelo amplamente utilizados para a avaliação das atividades de diferentes compostos ou extratos frente a radicais livres. Petacci et al. (2010) estudaram a ação da astilbina, um flavonóide isolado do barbatimão, sobre o radical ABTS \cdot^+ , encontrando IC_{50} de aproximadamente $9 \mu g mL^{-1}$ ($20 \mu M$), consideravelmente maior aos

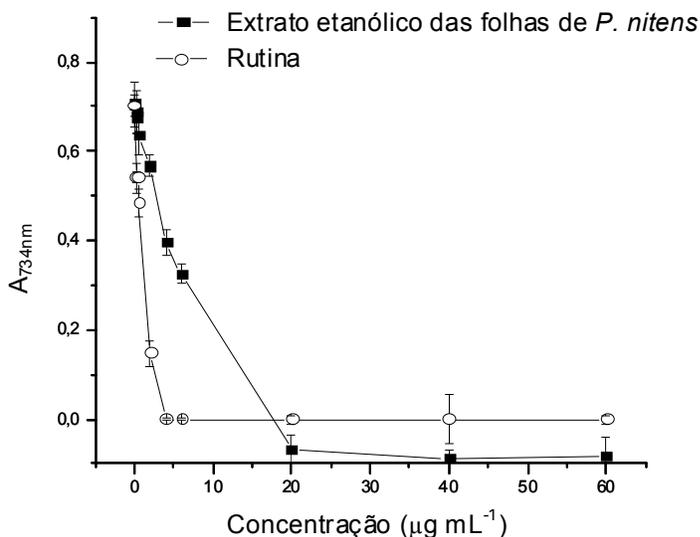


FIGURA 1. Ação *scavenger* sobre o radical ABTS \cdot^+ $55 \mu M$.

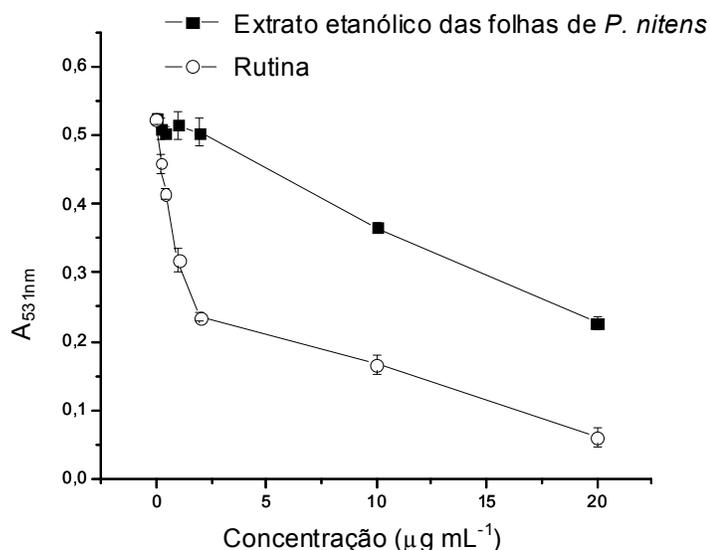


FIGURA 2. Ação scavenger sobre o radical DPPH 60 µM.

TABELA 1. Valores de concentrações das amostras testadas inibitórias em 50% (IC₅₀) frente ao ABTS^{•+}, DPPH[•] e HOCl, obtidos a partir dos gráficos concentração-resposta.

Espécie reativa	Amostra	Extrato bruto etanólico das folhas de <i>P. nitens</i>	Rutina
ABTS ^{•+} 55 µM		5,0 µg mL ⁻¹	0,98 µg mL ⁻¹
DPPH [•] 60 µM		17,0 µg mL ⁻¹	1,55 µg mL ⁻¹
HOCl 30 µM		3,9 µg mL ⁻¹	0,90 µg mL ⁻¹

valores obtidos pelo extrato e rutina estudados no presente trabalho. Tal dado indica que as amostras ora avaliadas apresentam maior potencial de ação frente a radicais livres do que a astilbina. A espécie *Dimorphandra mollis* Benth. (Fabaceae, Caesalpinioideae), é uma árvore comum na região Sudeste do Brasil (Petacci et al., 2010) e o potencial antioxidante também foi estudado por Hubinger et al. (2010), que obtiveram IC₅₀ de 3,5 µg mL⁻¹ e 38 µg mL⁻¹ frente aos radicais ABTS^{•+} e DPPH[•], respectivamente, para o extrato etanólico dos frutos desta planta. Tal resultado indica a especificidade de ação frente ao radical testado, pois o extrato das folhas de *P. nitens* teve ação inferior frente ao ABTS^{•+} e superior frente ao DPPH[•], quando comparado ao extrato etanólico dos frutos do barbatimão.

As folhas de *P. Nitens* mostraram-se excelente fonte de agentes contra espécies oxidantes e radicalares na medida que apresentaram potencial de ação frente aos radicais ABTS^{•+} e DPPH[•] superior aos observados para os extratos etanólicos das raízes, frutos, ramos e cascas do caule desta mesma planta, obtidos por Regasini et al. (2008a).

O peróxido de hidrogênio é uma molécula importante para a ação da mieloperoxidase, enzima que catalisa a formação de ácido hipocloroso *in vivo* (Lapenna & Cuccurullo, 1996) e, portanto, um alvo farmacológico importante. O ensaio utilizando peróxido de hidrogênio evidenciou que nem o extrato, nem o padrão (Rutina), foram capazes de agir sobre o H₂O₂ (Figura 3).

O extrato etanólico das folhas de *P. Nitens* também apresentou grande eficiência frente ao ácido hipocloroso (Figura 4), com IC₅₀ de 3,9 µg mL⁻¹, enquanto a rutina apresentou-se com IC₅₀ de 0,9 µg mL⁻¹ (Tabela 1). Em trabalho anterior, Velloso et al. (2006) observaram que o extrato bruto etanólico da casca das raízes da espinheira santa apresentou IC₅₀ de 2,0 µg mL⁻¹ e 1,9 µg mL⁻¹ frente ao ABTS^{•+} e HOCl, respectivamente. Apesar de o extrato etanólico das folhas de *P. Nitens* apresentar potencial de ação inferior ao observado para a espinheira santa, frente ao ácido hipocloroso e ABTS^{•+}, ainda assim, os dados obtidos no presente trabalho (baixas concentrações para exercer a ação) são bastante relevantes, pois, em sistemas biológicos, o ácido hipocloroso é o agente mais tóxico e abundante dentre os oxidantes

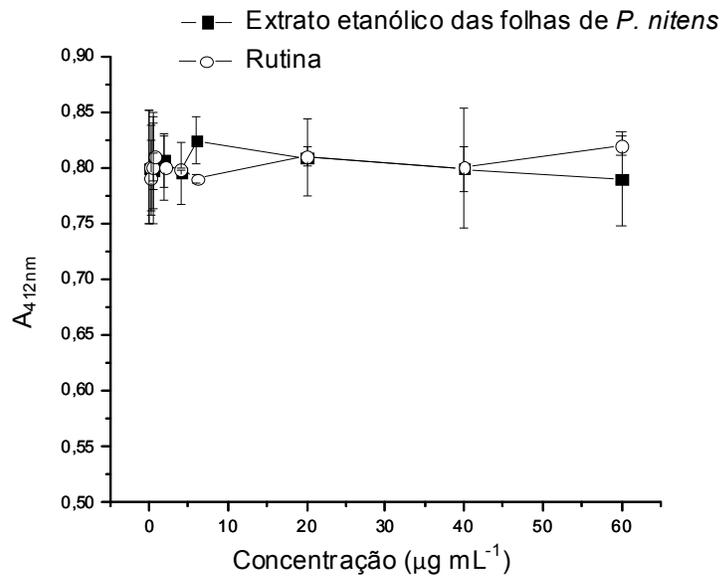


FIGURA 3. Ação scavenger sobre o peróxido de hidrogênio 100 µM.

produzidos pelos leucócitos polimorfonucleares (Lapenna & Cucurullo, 1996; Velloso et al., 2007b) e pode atacar moléculas importantes, além de gerar outras espécies reativas nocivas (Weiss, 1989; Eaton, 1993).

Desta forma, apesar de valores menores que o padrão, o extrato de *P. nitens* mostrou-se com promissora ação contra espécies reativas e, portanto, boa fonte de moléculas com potencial ação farmacológica. A descrição destas atividades de metabólitos presentes nas folhas de *P. nitens*, por meio do estudo do extrato etanólico, é, ainda, de grande valia, pois, mesmo não sendo considerada madeira nobre vem sendo empregada

indiscriminadamente pela construção civil e, por tratar-se de um gênero monoespecífico, a torna seriamente ameaçada de extinção (Carvalho, 1994). Dessa forma, os estudos químicos e biológicos (de quaisquer partes do vegetal) tornam-se prementes para o conhecimento de uma espécie encontrada exclusivamente na América do Sul e impactada pelo extrativismo. Com os dados de bioprospecção apresentados busca-se agregar valor à biodiversidade brasileira.

Ação sobre o dano provocado pelo radical AAPH em eritrócitos

No estudo da ação do extrato bruto das folhas de *P. nitens* frente ao radical AAPH• torna-se

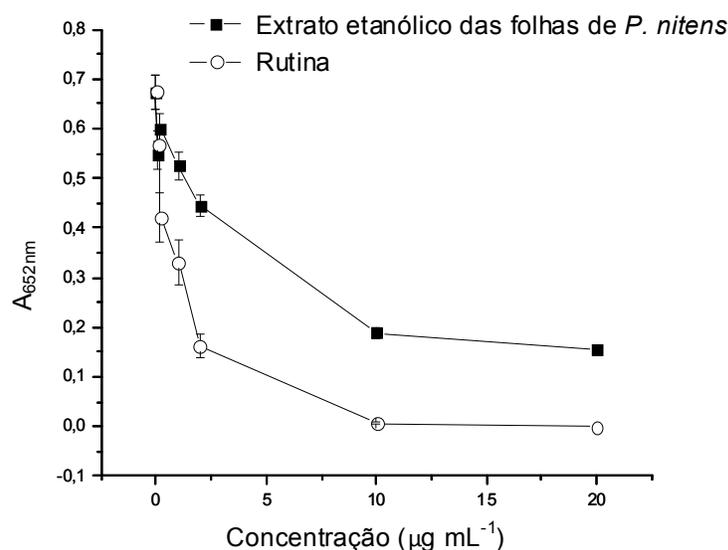


FIGURA 4. Ação scavenger sobre o ácido hipocloroso 30 µM.

necessário avaliar, primariamente, se o próprio extrato e o padrão não apresentam potenciais hemolíticos. Por meio da Figura 5, observa-se que o extrato apresenta baixa ação hemolítica enquanto o padrão (rutina) mostrou grande potencial de dano aos eritrócitos. O resultado observado pode ter sido ocasionado por distúrbio de membrana, provocado pelas moléculas presentes no extrato, incluindo a própria rutina, em decorrência de interações com lipídios, proteínas e/ou carboidratos da superfície celular, ou então, um possível distúrbio eletrostático promovido pelo potencial redox destas moléculas.

Observa-se ainda na Figura 5, que a ação hemolítica das amostras é alterada na presença do radical livre, o que potencializa ligeiramente esta

ação. A rutina, entretanto, nas menores concentrações, inibe a hemólise provocada pelo radical AAPH* e, em concentrações maiores, a ação hemolítica volta a elevar-se de forma concentração-dependente. Isso pode ser explicado pela formação de um produto com maior potencial lesivo, cuja concentração se eleva à medida que as amostras têm aumentadas suas concentrações frente ao AAPH*.

Perfil semelhante já havia sido observado por Velloso et al. (2011) para os flavonóides kaempferol, quercetina e isoquercetrina, isolados de *P. nitens*. Estes três flavonóides apresentaram ação *scavenger* sobre o ABTS*, DPPH* e HOCl, dentre outros. Entretanto, apresentaram elevado

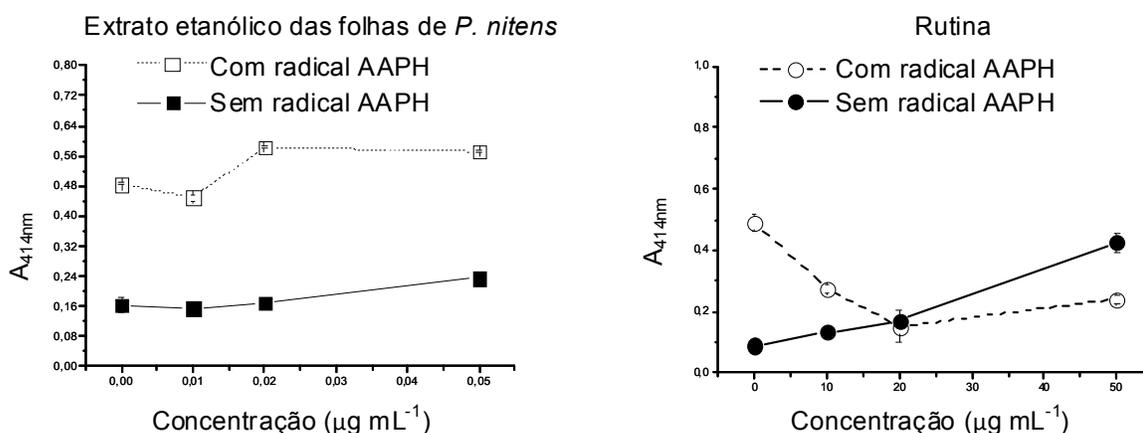


FIGURA 5. Ação hemolítica das amostras e interferência sobre a hemólise provocada pelo radical AAPH 25 mM.

potencial hemolítico ou oxidante na ausência de radical. Na presença de HOCl, estes flavonóides haviam inibido a hemólise em baixas concentrações, mas, em elevadas concentrações, observou-se aumento da liberação de hemoglobina. Além disso, frente ao radical AAPH*, os flavonóides puderam reduzir a hemólise nas concentrações avaliadas.

CONCLUSÃO

Frente aos dados obtidos, observa-se que o extrato bruto etanólico de *P. nitens* apresenta importante potencial de ação contra espécies reativas oxidativas, notadamente, frente a radicais livres e HOCl. Entretanto, a despeito desta atividade, também foi constatado um potencial lesivo às células, revelado pela lise de eritrócitos, seja pelo extrato, ou, até mesmo pela rutina, um antioxidante reconhecido e utilizado como padrão positivo para as atividades antioxidantes estudadas neste trabalho. Novos ensaios aprofundados são necessários para maiores esclarecimentos dos agentes responsáveis pelos

efeitos observados, mecanismos de ação e produtos formados nas reações.

AGRADECIMENTO

À Fundação Araucária e FAPESP pela bolsa concedida e apoio financeiro respectivamente.

REFERENCIA

- BOLZANI, V.S.; GUNATILAKA, A.A.L.; KINGSTON, D.G.I. Bioactive guanidine alkaloids from *Pterogyne nitens*. **Journal of Natural Products**, v.58, n.11, p.1683-8, 1995.
- CARVALHO, P.E.R. **Espécies florestais brasileiras: recomendações silviculturais, potencialidade e uso da madeira**. Rio de Janeiro: Editora Colombo/Embrapa-CNPQ, 1994. 163p.
- COSTA, M.; XIMENES, V.F.; FONSECA, L.M. Hypochlorous acid inhibition by acetoacetate: implications on neutrophil functions. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, v.27, n.8, p.1183-7, 2004.
- CRIVOS, M. et al. Pathways as "signatures in landscape":

- towards an ethnography of mobility among the *mbya-guaraní* (Northeastern Argentina). **Journal Ethnobiology and Ethnomedicine**, v.3, n.2, p.1-12, 2007.
- EATON, J.W. Defenses against hypochlorous acid: Avaliação da mutagenicidade e antimutagenicidade de diferentes frações de *Pterogyne nitens* (Leguminosae), utilizando ensaio de micronúcleo em *Tradescantia pallida*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.1A, p.61-7; 2009
- HUBINGER, S.Z. et al. *Dimorphandra mollis*: uma alternativa como fonte de flavonóides de ação antioxidante. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.29, n.2, p.271-4, 2010.
- LAPENNA, D.; CUCCUROLLO, F. Hypochlorous acid and its pharmacological antagonism: an update picture. **General Pharmacology**, v.27, p.1145-7, 1996.
- LORENZI, H. **Árvores Brasileiras**: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 3.ed., Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, v.1, p.163, 1998.
- NASSIF, S.M.L.; PEREZ, S.C.J.G.A. Efeitos da temperatura na germinação de sementes de Amendoim-Do-Campo (*Pterogyne nitens* Tul.). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 22, n.1, p.1-6, 2000.
- OLIVEIRA, A.M. et al. Evaluation of micronuclei frequency in *Tradescantia pallida* pollen mother cells treated with ethanolic extracts isolated from *Cryptocarya mandiocana*, *Cryptocarya moschata* and *Pterogyne nitens*. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.20, n.1, p.73-8, 2007.
- PELLEGRINI, N. et al. Screening of dietary carotenoids and carotenoid-rich fruit extracts for antioxidant activities applying 2,2'-azinobis(3-ethylenebenzothiazoline-6 sulfonic acid radical cation decolorization assay. **Methods in Enzymology, Oxidants and Antioxidants Part A**, v.299, p.379-89, 1999.
- PETACCI, F. et al. Inhibition of peroxidase activity and scavenging of reactive oxygen species by astilbin isolated from *Dimorphandra mollis* (Fabaceae, Caesalpinioideae). **Biological Research**, v.43, n.1, p.63-74, 2010.
- PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, v.63, n.7, p.1035-42, 2000.
- REGASINI, L.O. et al. Antiproliferative effect of *Pterogyne nitens* on melanoma cells. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.28, n.3, p.335-40, 2007.
- REGASINI, L.O. et al. Free radical scavenging activity of *Pterogyne nitens* Tul. Fabaceae. **African Journal of Biotechnology**, v.7, n.24, p.4609-13, 2008a.
- REGASINI, L.O. et al. Constituintes químicos das flores de *Pterogyne nitens* (Caesalpinioideae). **Química Nova**, v.31, n.4, p.802-6, 2008b.
- REGASINI, L.O. et al. Flavonols from *Pterogyne nitens* and their evaluation as myeloperoxidase inhibitors. **Phytochemistry**, v.69, n.8, p.1739-44, 2008c.
- REGASINI, L.O. et al. Cytotoxic guanidine alkaloids from *Pterogyne nitens*. **Journal of Natural Products**, v.72, n.3, p.473-6, 2009a.
- REGASINI, L.O. et al. Identification of triterpenes and sterols from *Pterogyne nitens* (Fabaceae-Caesalpinioideae) using high-resolution gas chromatography. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v.54, n.3, p.218-21, 2009b.
- REGASINI, L.O. et al. Antimicrobial activity of *Pterogyne nitens* Tul., Fabaceae, against opportunistic fungi. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.5, p.706-11, 2010.
- SOARES, J. R. et al. Antioxidant activities of some extracts of *Thymus zygis*. **Free Radical Research**, v.26, n.5, p.469-78, 1997.
- SOUZA, A. et al. Tratamento crônico com extrato alcoólico de *Pterogyne nitens* não melhora parâmetros clássicos do diabetes experimental. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.19, n.2A, p.412-7, 2009.
- SOUZA, A. et al. Alcohol extract of *Pterogyne nitens* leaves fails to reduce severity of streptozotocin-induced diabetes in rats. **Journal of Medicinal Plants Research**, v.4, n.9, p.802-8, 2010.
- VELLOSA, J.C.R. et al. Antioxidant activity of *Maytenus ilicifolia* root bark. **Fitoterapia**, v.77, n.3, p.243-4, 2006.
- VELLOSA, J.C.R. et al. Profile of *Maytenus aquifolium* action over free radicals and reactive oxygen species. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.43, n.3, p.447-53, 2007a.
- VELLOSA, J.C.R. et al. Does cotinine act upon reactive oxygen species and peroxidases? **Eclética Química**, v.32, n.1, p.65-70, 2007b.
- VELLOSA, J.C.R. et al. *Salacia campestris* Root Bark Extract: Peroxidase Inhibition, Antioxidant and Antiradical Profile. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.45, n.1, p.99-107, 2009.
- VELLOSA, J.C.R. et al. Biochemical and citotoxic study for kaempferol, quercetin and isoquercetrin antioxidant activities. **Ecética Química**, v.36, *in press*, 2011.
- VISSERS, M.C.M.; CARR, A.C.; CHAPMAN, A.L.P. Comparison of human red cell lysis by hypochlorous and hypobromous acids: insights into the mechanism of lysis. **The Biochemical Journal**, v.330, p.131-8, 1998.
- WEISS, S.J. Tissue destruction by neutrophils. **New England Journal of Medicine**, v.320, n.6, p.365-76, 1989.
- YANG, H.L., et al. Protection from oxidative damage using *Bidens pilosa* extracts in normal human erythrocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, n.9, p.1513-21, 2006.