

Avaliação de atividades biológicas das sementes de *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae)

Vasconcelos, M. C. A.¹; Rodvalho, N. C. M.²; Pott, A.³; Pott, V. J.³; Ferreira, A. M. T.²;
Arruda, A. L. A.²; Marques, M. C. S.²; Castilho R. O.²; Bueno, N. R.^{2*}

¹Curso de Biologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde; ²Curso de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, MS;

³Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte de Campo Grande (CNPGC/EMBRAPA).

Recebido para publicação em: 04/02/2004
Aceito para publicação em: 20/05/2004

RESUMO: *Stryphnodendron obovatum* Benth., conhecido como “barbatimão”, é uma espécie pertencente à família Leguminosae, sub-família Mimosoideae, e é amplamente distribuído em campos e cerrados. Na medicina popular, cascas de *S. obovatum* são usadas no tratamento de processos inflamatórios, como cicatrizante, para diarreia, frieira. Neste trabalho investigou-se a presença de proteínas e as atividades citotóxica, antibacteriana, antifúngica do extrato salino das sementes de *S. obovatum*. O extrato salino *S. obovatum* não apresentou toxicidade frente ao ensaio com *Artemia salina*, nem mostrou atividade antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Escherichia coli*. Na avaliação da atividade antioxidante, o extrato salino apresentou uma CE₅₀ de 12,193 µg/mL, enquanto a do padrão positivo BHT foi 2,98 µg/mL. O extrato salino de *S. obovatum* não apresentou atividade antifúngica, tanto na técnica de bioautografia com o fungo *Cladosporium sphaerospermum*, quanto no método de difusão em disco, realizado com *Candida albicans*. Foi realizado teste de atividade enzimática na qual observou-se a hidrólise do substrato H-D-Benzoil-arginina-p-nitroanilida (Bz-Arg-pNan).

Unitermos: *Stryphnodendron obovatum*; sementes; antioxidante; antibacteriana; antifúngica; ação enzimática.

ABSTRACT: Evaluation of biological activities of the seeds of *Stryphnodendron obovatum* Benth. (Leguminosae). *Stryphnodendron obovatum* Benth., popularly known as “barbatimão”, belongs to the Leguminosae family, of the Mimosoideae subfamily, and is present in fields and in “cerrados”. *S. obovatum* bark is used in popular medicine for treating inflammatory processes, for healing wounds, and as cure for diarrhea and chilblain. This research investigates the presence of proteins and the cytotoxic, antifungal, antibacterial and antioxidant activities of the *S. obovatum* seed saline extract. The saline extract did not show cytotoxicity against *Artemia salina* nor any antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. The evaluation of the antioxidant

activity showed a $CE_{50}=12.193 \mu\text{g/mL}$, and the BHT positive pattern presented $2.98 \mu\text{g/mL}$. The *S. obovatum* saline extract was tested against *Cladosporium sphaerospermum* and *Candida albicans*, using the bioautography technique and the disk diffusion method. Benzoyl-arginine-p-nitroanilide (Bz-Arg-pNan) was hydrolyzed by the saline extract.

Key words: *Stryphnodendron obovatum*; seeds; cytotoxicity; antifungal; antibacterial; antioxidant and enzymatic properties.

INTRODUÇÃO

Stryphnodendron obovatum Benth., o “barbatimão”, pertence à família das Leguminosae, sub-família Mimosoideae, e é amplamente distribuído em campos e cerrados (GOODLAND; FERRI, 1979). O gênero *Stryphnodendron* apresenta cerca de 28 espécies espalhadas pelos Cerrados do Brasil Central (RIZZINI, 1997) sendo uma espécie comumente encontrada em Minas Gerais, São Paulo, Goiás, Mato Grosso do Sul, Ceará, Maranhão e Piauí (AFONSO; POTT, 2001).

Nos últimos anos houve um grande aumento nos estudos realizados com espécies vegetais da família Leguminosae. Os estudos já realizados demonstram a presença de inibidores de proteases, taninos, saponinas, inibidores de tripsina, alcalóides, terpenos, esteróides, estilbenos e flavonóides (OLIVEIRA et al., 2002; SOARES et al., 2002; TOKARNIA et al., 1998). Os gêneros mais estudados do ponto de vista químico são: *Bauhinia*, *Stryphnodendron*, *Pseudopiptadenia* e *Caesalpinia* (COSTA et al., 2002; MOREIRA et al., 2002; SILVA; FILHO, 2002). As sementes desses gêneros de Leguminosae são importantes na nutrição humana devido ao seu alto teor de proteínas (SHEWRY, 1995). Essas proteínas podem interferir em processos fisiológicos tais como germinação e maturação das sementes ou ainda servir de defesa contra o ataque de insetos predadores (SAMPAIO et al., 1996). Dentre as espécies vegetais da família Leguminosae ricas em inibidores de proteinases, pode-se citar: *Torresea cearensis* Allemão, *Dioclea glabra* Benth., *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit, *Enterolobium contortisiliquum* (Vell.) Morong, *Bauhinia rufa* (Bong.) Steud., *Bauhinia unguolata* L., *Bauhinia bauhinoides* (Mart.) Macbr, entre outros (BUENO, 1994).

Na medicina popular, *S. obovatum* é usado no tratamento de processos inflamatórios, como cicatrizante, para diarreia, frieira e ferida “braba” de cavalo (POTT; POTT, 1994). As favas causam intoxicação capaz de provocar aborto em bovinos (TOKARNIA et al., 1998). O princípio tóxico das favas de *S. obovatum* ainda não foi identificado, mas elas provocam irritação no trato digestivo dos bovinos, e talvez a presença de saponinas seja responsável ou participe da patogenia da intoxicação por *S. obovatum* (BRITO et al., 2001). O objetivo desse trabalho é avaliar atividades biológicas do extrato salino das sementes de *S. obovatum*, assim como investigar a presença de proteínas em suas sementes.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

As sementes de *Stryphnodendron obovatum* foram coletadas em outubro de 2002 numa área de 43 hectares de cerrado, próxima ao Campus da Universidade Católica Dom Bosco (UCDB), em Campo Grande (MS), entre as coordenadas $20^{\circ}24'-37^{\circ}4's$ e $54^{\circ}36'-52^{\circ}5'w$, com altitude de 569 a 640 m. O material vegetal foi identificado pelos botânicos Arnildo Pott e Vali Joana Pott e depositado, com o nº 6254, no Herbário de Mato Grosso do Sul (HMS), no Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Corte (CNPGC-EMBRAPA).

Extração de proteínas

Os cotilédones das sementes (5 g) de *Stryphnodendron obovatum* foram triturados em moinho de faca e o pó obtido foi suspenso com solução de NaCl 0,15M, na proporção de 1:20 (m/v). Em seguida, o material foi centrifugado a 15.000 rpm durante 15 min e a solução sobrenadante foi separada, sendo o precipitado desprezado.

Determinação de proteínas

A concentração de proteína do extrato salina foi estimada por espectrofotometria (Thermo Spectronic/Aquamate), a 280 nm, assumindo-se o valor empírico de 1,0 mg/mL da proteína para soluções que apresentam absorvância 1,0. A determinação quantitativa de proteína foi realizada de acordo com o método de Gornall e colaboradores (1949), utilizando-se albumina sérica bovina como padrão.

Avaliação da letalidade para larvas de *Artemia salina*

Utilizou-se a metodologia preconizada por Meyer e colaboradores (1982), com algumas variações. Dez larvas de *Artemia salina* foram transferidas para os tubos de ensaio contendo a amostra do extrato salino de *S. obovatum* em sete diferentes concentrações (0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 e 1 mg/mL). Os ensaios foram realizados em quadruplicata. Os tubos de ensaio foram mantidos sob iluminação e as larvas sobreviventes foram contadas após 24 h. A CL₅₀ foi determinada pela regressão linear. Realizou-se o ensaio com solução salina em branco e, posteriormente, comparou-se os resultados com padrão positivo timol.

Avaliação da atividade antioxidante

Foram utilizadas soluções do extrato salino de *S. obovatum* e solução de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) a 0,3 mM em etanol. Os padrões positivos foram rutina e BHT (butil-hidroxitolueno) nas concentrações de 50, 125, 250, 500, 750, 1000 µg/mL, sendo o etanol utilizado como controle negativo. Para cada concentração foram feitas avaliações em triplicatas. Após um período de 30min foram lidas as absorvâncias a 516 nm. Foram calculadas as médias dos percentuais da atividade antioxidante (%AAO) das amostras, em cada uma das concentrações testadas e o gráfico da %AAO versus concentração foi construído para se obter a concentração efetiva em 50% de atividade por meio da regressão linear (CHEVOLLEAU et al., 1992).

Avaliação da atividade enzimática

Para esse teste, foram utilizados: 25 µL de tampão Tris-HCl 0,1 M, pH 7,0 e 50 µL de extrato salino de *S. obovatum*, que foram incubados com 25 µL de H-D-benzoil-anginina-p-nitroanilida (Bz-Arg-pNan) 4 mM e o volume acertado para 200 µL com solução salina de NaCl 0,15 M, 37 °C (CHASE; SHAW, 1970). O experimento foi interrompido com 10 µL de ácido acético. Após 30 min, foram medidas as absorvâncias a 405 nm.

Avaliação da atividade antibacteriana

As bactérias Gram-positivas *Staphylococcus aureus* (13709) e Gram-negativas *Pseudomonas aeruginosa* (27853) e *Escherichia coli* (11229) foram obtidas da American Type Culture Collection (ATCC).

As amostras isoladas foram inoculadas em caldo Mueller Hinton até atingir uma densidade de 10^8 células. O extrato salino foi diluído em solução de NaCl 0,15 M nas concentrações de 66, 50, 10, 1, 0,5, 0,25 e 0,125 mg/mL. Discos de papel foram impregnados com 20 μ L dos extratos diluídos e colocados em placas contendo meio de cultura sólido. Da mesma forma foram adicionados discos, obtidos comercialmente (CECON[®]), contendo concentração padronizada dos antibacterianos: penicilina, ampicilina, cefalotina e gentamicina. A atividade antibacteriana do extrato salino foi avaliada pela medida do halo de inibição (mm) após 24 h de incubação a 37 °C.

Atividade antifúngica

Utilizou-se *Candida albicans* (10231) obtida da American Type Culture Collection e *Cladosporium sphaerospermum*, obtido do Instituto Botânico da Universidade de São Paulo. Com *C. sphaerospermum*, utilizou-se o método de bioautografia (HOMANS; FUCHS, 1970) em alíquotas de 100 μ L do extrato salino de *S. obovatum*. Foram utilizados como controle positivo o antifúngico fluconazol e como controle negativo a solução salina utilizada na extração. Após aplicação na cromatoplaça e completa secagem dos solventes, uma suspensão de esporos de *Cladosporium sphaerospermum* (inóculo: 2×10^8 UFC/mL) foi borrifada e as placas incubadas por três dias em ambiente úmido, à temperatura de 35°C.

Para avaliar a atividade do extrato em relação a *Candida albicans* utilizou-se o método de difusão em ágar (SMÂNIA et al., 1995). Preparou-se uma suspensão com diluição de 1:10000, até atingir uma densidade óptica aproximada de 2×10^6 UFC/mL, para posterior semeadura em placas contendo ágar Sabouraud. Discos de papel foram impregnados com 50 μ L do extrato salino de *S. obovatum*. Da mesma forma foram adicionados discos, obtidos comercialmente (Pharma Nostra), contendo concentração padronizada de fluconazol. A atividade antifúngica dos extratos foi avaliada pela medida do halo de inibição (mm) após 72 h de incubação a 37°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A etapa extrativa dos cotilédones, realizado com solução de NaCl 0,15 M, rendeu 108 mL de extrato salino, contendo 65,2 mg de proteínas por mL de extrato, conforme a determinação espectrofotométrica a 280 nm e a determinação quantitativa pelo método de Gornall e colaboradores (1949).

Não foi observada atividade tóxica para o extrato salino das sementes de *S. obovatum* frente ao microcrustáceo *Artemia salina*. A avaliação da letalidade para larvas de *Artemia salina* permite detectar compostos bioativos em extratos e frações, facilitando o isolamento de compostos biologicamente ativos, contribuindo para investigações químicas e farmacológicas de produtos naturais (TROTTER et al., 1983; FONTENELE et al., 1988; SOLIS et al., 1993).

Muitas classes de moléculas biológicas são susceptíveis de ataque por espécies reativas de oxigênio, incluindo aminoácidos e ácidos graxos insaturados, formando radicais livres, que prejudicam as funções celulares, causando várias doenças. Inúmeras substâncias encontradas em plantas têm atividade antioxidante nos sistemas biológicos e suas funções bioquímicas, assim como seus mecanismos de ação, vêm sendo largamente estudados. Os radicais livres podem ser neutralizados por substâncias antioxidantes presentes nos vegetais e o consumo destas substâncias reduz o risco de uma série de doenças degenerativas (LARSON, 1988; SIES, 1993; REICE-EVANS et al., 1996).

O extrato salino das sementes de *S. obovatum* não apresentou atividade antioxidante, pois mostrou uma CE_{50} de 12,19 μ g/mL, enquanto os padrões positivos BHT e rutina apresentaram 2,98 μ g/mL, e 2,27 μ g/mL, respectivamente. Sabe-se que espécies do gênero *Stryphnodendron*,

como *S. adstringens* (Mart.) Coville, caracterizam-se por apresentar alto teor de taninos em sua madeira, cascas, folhas e frutos (SOARES et al., 2002) e, portanto, podem apresentar atividade antioxidante. Entretanto, neste trabalho foram utilizadas sementes de *S. obovatum*, que não apresentaram atividade.

O extrato salino das sementes de *S. obovatum* hidrolisou o substrato peptídico Bz-Arg-pNan. Os resultados preliminares da avaliação de atividade enzimática estão apresentados na Tabela 1. Os substratos peptídicos derivados de p-nitroanilidas caracterizam-se pela facilidade em se medir sua hidrólise pelo desenvolvimento de cor. As enzimas proteolíticas classificadas como endopeptidases quebram ligações peptídicas de aminoácidos cuja extremidade carboxílica pertence a um aminoácido localizado no interior da seqüência, e essa propriedade também é estendida a substratos sintéticos peptídicos derivados de p-nitroanilidas (p-Nan) como Bz-Arg-pNan, que pode ser um substrato conveniente para algumas endopeptidases (BARRETT, 1986).

Tabela 1. Hidrólise enzimática do substrato Bz-Arg-pNan pelo extrato salino das sementes de *Stryphnodendron obovatum*.

	Volume (mL)	Proteína *mg/g semente	Ativ. Enzimática ** U/g semente	Ativ. Enzimática U/mg proteína
Extrato salino	108	65,2	5,1	0,078

* Proteína determinada pelo método de Biureto, expresso em mg por g de semente.

** Atividade enzimática – mmoles de Bz-Arg-pNan hidrolisados nas condições descritas em Material e Métodos

Os controles positivos ampicilina, cefalotina, gentamicina e penicilina mostraram-se eficazes no crescimento bacteriano, com exceção da ampicilina e cefalotina, que não inibiram o crescimento de *Pseudomonas aeruginosa*. A solução de NaCl 0,15 M, utilizada como controle negativo e o extrato salino das sementes de *S. obovatum* não apresentaram atividade antibacteriana. Os resultados da atividade antibacteriana estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Atividade antibacteriana do extrato salino das sementes de *Stryphnodendron obovatum*, comparada com ação de antibióticos através do método de difusão em ágar.

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
Ampicilina	-	* 40 mm	* 20 mm
Cefalotina	-	* 40 mm	* 16 mm
Gentamicina	* 16 mm	não testado	* 16 mm
Penicilina	não testado	* 35 mm	não testado
Extrato salino de <i>S. obovatum</i>	-	-	-

* Medida do halo de inibição do crescimento bacteriano

- Ausência de atividade antibacteriana

O crescimento dos fungos *Cladosporium sphaerospermum* (bioautografia) e *Candida albicans* (método de difusão em disco) não foi inibido pelo extrato salino das sementes de *S. obovatum*, indicando ausência de atividade antifúngica. A ausência de atividade antifúngica e antibacteriana no extrato salino das sementes de *S. obovatum* pode estar associada à baixa concentração de compostos com propriedades farmacológicas. Compostos responsáveis por essas atividades, tais como diterpenos, têm sido descritos principalmente em cascas (KHAN e OMOLOSO, 2002; GOUN et al., 2003), folhas (RASOAMIARANJANAHARY et al., 2003) e frutos (CAMACHO-HERNANDEZ et al., 2002), através de extrações realizadas com solventes orgânicos.

Os resultados obtidos demonstraram que o extrato salino das sementes de *S. obovatum* não apresenta atividades antioxidante, antibacteriana e antifúngica, nem toxicidade, porém apresenta atividade enzimática e um significativo teor de proteínas, característico de sementes da família Leguminosae.

REFERÊNCIAS

- AFONSO, E.; POTT, A. *Plantas tóxicas para bovinos*. EMBRAPA: Campo Grande, MS, 2001.
- BARRETT, A.J. The classes of proteolytic enzymes. In: DALLING, M.J. *Plant proteolytic enzymes*. Florida: CRC Press, p.1-16, 1986.
- BRITO, M.F.; TORKANIA, C.H.; PEIXOTO, P.V.; SILVA, H.K.; NOGUEIRA, M. Intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendron obovatum* (Leg. Mimosoideae) em bovinos. 1. Caracterização do quadro clínico. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.21, p.9-17, 2001.
- BUENO, N.R. *Caracterização de uma arginil endopeptidase e de inibidor de tripsina das sementes de Dioclea glabra Benth*. São Paulo, 114p. Tese (Mestrado) - Escola Paulista de Medicina /Departamento de Bioquímica, 1994.
- CAMACHO-HERNANDEZ, I.L.; CHÁVEZ-VELÁZQUEZ, J.A.; URIBE-BELTRÁN, M.J.; RÍOS-MORGAN, A.; DELGADO-VARGAS, F. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Bromelia pinguin*. *Fitoterapia*, v.73, p.411-313, 2002.
- CHASE, T.; SHAW, E. Titration of trypsin, plasmin and thrombin with p-nitro- phenyl-p-guanidinobenzoate HCl. *Methods of Enzymology*, v.19, p.20-27, 1970.
- CHEVOLLEAU, S.; MALLET, J.F.; UCCIANI, E.; GAMISANS, J.; GRUBER, M. Antioxidant activity in leaves of some Mediterranean plants. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v.69, n.12, p.1269-1271, 1992.
- COSTA, T.E.M.M.; DIAS, A.P.M.; CAPRILES, P.V.S.Z.; OLIVEIRA, M.B.N.; AMORIM, E.L.C.; LIMA, C.S.A.; FILHO, M.B. Effect of barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] infusion on the labling of blood elements with technetium-99m. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, supl., p.7-9, 2002.
- FONTENELLE, A. J.; CARVALHO, U.; MELO, V.M.; BRAGA, L.M.; AGUIAR, A.; MATOS, F.J .A. Avaliação da toxicidade de extratos de plantas medicinais através de bioensaio com *Artemia salina* Leach. *Ciência e Cultura*, v.40, n.11, p.1109-1111, 1988.
- GOODLAND, R.J.A.; FERRI, M.G. *Ecologia do Cerrado*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1979.
- GORNALL, A.G.; BARDAWILL, C.J.; DAVID, M.M. Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry*, v.177, p.751-766, 1949.
- GOUN, E.; CUNNINGHAM, G.; CHU, D.; NGUYEN, C.; MILES, D. Antibacterial and antifungal activity of Indonesian ethnomedical plants. *Fitoterapia*, v.76, p.592-596, 2003.
- HOMANS, A.L.; FUCHS, A. Direct bioautography on thin layer chromatograms as a method for detecting fungitoxic substances. *Journal of Chromatography*, v.51, p.327-329, 1970.
- KHAN, M.R.; OMOLOSO, A.D. Antibacterial and antifungal activities of *Dracontomelon dao*. *Fitoterapia*, v.73, p.327-330, 2002.

- LARSON, R.A. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, v.27, n.4, p.969-978, 1988.
- MEYER, B.N.; FERRINI, N.R.; PUTNAM, J.E.; JACOBSEN, L.B.; NICHOLS, D.E.; McLAUGHLIN, J.L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, v.45, p.31-34, 1982.
- MOREIRA, D.L.; ENGELHARDT, R.L.; REIS, A.S.; SANCHES, E.M.; LEITÃO, S.G.; LEITÃO, G.G. Substâncias fenólicas com atividades antioxidantes de *Pseudopiptadenia contorta* (Leguminosae-Mimosoideae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, supl., p.124-125, 2002.
- OLIVEIRA, L.G.; GOZZO, A.J.; NUNES, V.A.; SILVA, I.C.; SAMPAIO, M.U.; SAMPAIO, C.A.M.; ARAÚJO, M.S. Inibidores de proteases encontrados em sementes de *Caesalpinia echinata* (pau-brasil) - isolamento e caracterização do inibidor de tripsina. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, supl., p.72-74, 2002.
- POTT, A.; POTT, V.J. *Plantas do Pantanal*. EMBRAPA: Corumbá, MS, 1994.
- RASOAMIARANJANAHARY, L.; MARSTON, A.; GUILLET, D.; SCHENK, K.; RANDIMBIVOLOLONA, F.; HOSTETTMANN, K. Antifungal diterpenes from *Hypoestes serpens* (Acanthaceae). *Phytochemistry*, v.62, p.333-337, 2002.
- RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology & Medicine*, v.20, n.7, p.933-956, 1996.
- RIZZINI, C.T. *Tratado de Fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos*. São Paulo: Âmbito Cultural, 1997.
- SAMPAIO, C.A.M.; OLIVEIRA, M.L.V.; SAMPAIO, M.U.; BATISTA, I.F.C.; BUENO, N.R.; TANAKA, A.S.; AUERSWALD, E.A.; FRITZ, H. Plant serine proteinase inhibitors. Structure and biochemical applications on plasma kallikrein and related enzymes. *Immunopharmacology*, v.32, p.62-66, 1996.
- SHEWRY, P.R. Plant storage proteins. *Revista Brasileira de Biologia*, v.70, p.375-426, 1995.
- SIES, H. Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, v.215, p.213-219, 1993.
- SILVA, K.L.; FILHO, V.C. Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição química e potencial farmacológico. *Química Nova*, v.25, n.3, p.449-454, 2002.
- SMÂNIA, A.L.; DELLE, M.F.; SMÂNIA, E.F.A.; GIL, M.L.; BENCHETRIT, L.C.; CRUZ, F.S. Antibacterial activity of substance produced by the fungus *Pycnoporus sanguineus* (Fr.) Merr. *Journal of Ethnopharmacology*, v.45, p.177-181, 1995.
- SOARES, J. D.A.H.; ALVES, R.K.; ISAC, E.; BEZERRA, J.C.B.; GOMES, M.H.; SANTOS, S.C.; FERRI, P.H. Atividade tripanocida *in vivo* de *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão verdadeiro) e *Caryocar brasiliensis* (pequi). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.12, supl., p.01-02, 2002.
- SOLIS, P.N.; WRIGHT, C.W.; ANDERSON, M.M.; GRUPTA, M.P.; PHILLIPSON, J.D. A microwell cytotoxicity assay using *Artemia salina* (Brine Shrimp). *Planta Medica*, v.59, p.250-252, 1993.
- TOKARNIA, C.H.; BRITO, M.F.; DRIEMEIER, D.; COSTA, J.B.D.; CAMARGO, A.J.R. Aborto em vacas na intoxicação experimental pelas favas de *Stryphnodendron obovatum* (Leg. Mimosoideae). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v.18, n.1, 1998.
- TROTTER, R.T.; LOGAN, M.H.; ROCHA, J.M.; BONETA, J.L. Ethnography and bioassay: combined methods for a preliminary screen of home remedies for potential pharmacological activity. *Journal of Ethnopharmacology*, v.8, p.113-119, 1983.

***Autor para correspondência**

Profa. Norlene R. Bueno
Curso de Farmácia
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Católica Dom Bosco
Av. Tamandaré, 6000 – Jardim Seminário
79117-900 – Campo Grande – MS
E-mail: norlene@turing.ucdb.br