

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/03/2018.

AMANDA MARTINS VIEL

**EFEITOS DO EXTRATO DE *AGAVE SISALANA* Perrine SOBRE A
TOXICIDADE OVARIANA E UTERINA, FERTILIDADE E
PARÂMETROS FETAIS DE RATAS**

ASSIS

2016

AMANDA MARTINS VIEL

**EFEITOS DO EXTRATO DE *AGAVE SISALANA* Perrine SOBRE A
TOXICIDADE OVARIANA E UTERINA, FERTILIDADE E
PARÂMETROS FETAIS DE RATAS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de Mestra em Biociências (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica).

Orientador (a): Prof^a Dr^a Isabel Cristina Cherici Camargo

ASSIS

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Biblioteca da F.C.L. – Assis – Unesp

Viel, Amanda Martins

V659e Efeitos do extrato de *Agave Sisalana* Perrine sobre a toxicidade ovariana e uterina, fertilidade e parâmetros fetais de ratas / Amanda Martins Viel. Assis, 2016.

54 f. : il.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis – Universidade Estadual Paulista

Orientadora: Dra. Isabel Cristina Cherici Camargo

AMANDA MARTINS VIEL

EFEITOS DO EXTRATO DE "AGAVE SISALANA" Perrine
SOBRE A TOXICIDADE OVARIANA E UTERINA,
FERTILIDADE E PARÂMETROS FETAIS DE RATAS

Dissertação apresentada à Faculdade de
Ciências e Letras – UNESP para a obtenção
do título de Mestrado Acadêmico em
Biociências (Área de Conhecimento:
Caracterização e Aplicação da Diversidade
Biológica)

Data da Aprovação: 17/03/2016

COMISSÃO EXAMINADORA



Presidente: PROFA. DRA. Isabel Cristina Cherici Camargo - UNESP/Assis



Membros: PROF. DR. Régildo Márcio Gonçalves da Silva - UNESP/Assis



PROFA. DRA. Eneri Vieira de Souza Leite Mello - UEM/Maringá

*Dedico este trabalho a minha querida avó
Palmira (in memoriam), tão importante na
minha formação como pessoa. Levo seus conselhos
sempre comigo, no coração!*

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me guiar e me fortalecer em todos os momentos da minha vida.

À minha mãe **Maria**, pelo amor incondicional e por toda dedicação que sempre teve para me ver bem e feliz.

Ao meu pai **Carlos**, pelo amor e por sempre me incentivar a buscar os meus objetivos.

Ao meu irmão **Carlinhos**, por todo amor e por ser sempre tão positivo comigo.

Ao meu namorado **Gustavo**, meu grande companheiro, sempre presente nos momentos mais importantes da minha vida! Por todo amor, compreensão, paciência e apoio.

À minha orientadora **Dra. Isabel Cristina Cherici Camargo**, pela oportunidade, confiança, paciência e por todos os ensinamentos e conselhos que vou levar para vida. Toda minha admiração pela excelente profissional e pelo grande coração que pude conhecer ao longo desses anos.

Ao professor **Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva**, por ter aceitado com alegria o convite para compor a banca. E por toda dedicação à profissão, a minha admiração.

À professora **Dra. Eneri Vieira de Souza Leite Mello**, que gentilmente aceitou o convite para compor a banca.

À professora **Dra. Lucinéia dos Santos**, por ter despertado minha vocação para a área acadêmica e pelo incentivo e confiança depositados em mim, desde a graduação.

Às colegas de mestrado **Janine Mailho Gimenis**, uma pessoa iluminada que me ajudou muito com seus bons conselhos e a **Maria José Malagutti Ferreira** com quem dividi tantos momentos de alegrias e sufocos.

À minha querida amiga **Gláucia Aparecida Arruda**, pela amizade, tantas conversas, conselhos, desabafos e muitas risadas.

Ao ex-aluno de graduação **Willian Eduardo Neres**, pela paciência e disponibilidade em me transmitir todo seu conhecimento de laboratório, sempre com muito bom humor.

Aos colegas de laboratório **Vinícius, Bianca e Mirian** pelo auxílio nos momentos necessários, sempre muito prestativos em ajudar.

Aos amigos de trabalho **Gislene, Yara, Claudinha, Jefferson e Cléo** pelas palavras positivas nos momentos de dificuldades e pelos momentos de descontração e de muitas risadas que passamos juntos.

Aos funcionários da Universidade Estadual Paulista, em especial à **Eliane**, pela disposição e auxílios prestados.

À todos os professores do mestrado que de alguma forma contribuíram para minha formação, meus sinceros agradecimentos.

“Mesmo quando tudo parece desabar, cabe a mim decidir entre rir ou chorar, ir ou ficar, desistir ou lutar, porque descobri no caminho incerto da vida, que o mais importante é o decidir.”

Cora Coralina

VIEL, Amanda Martins. **Efeitos do extrato de *Agave sisalana* Perrine sobre a toxicidade ovariana e uterina, fertilidade e parâmetros fetais de ratas.** 2016. 54f. Dissertação (Mestrado em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2016.

RESUMO

A *Agave sisalana* (sisal) é amplamente cultivada em território brasileiro. Foi constatada a presença de cinco saponinas esteroidais nessa planta, responsáveis por várias atividades farmacológicas, destacando-se as atividades antifúngica e anti-inflamatória. Popularmente, o sisal ainda é utilizado para o tratamento de doenças hepáticas, tuberculose e sífilis. Devido à sua ação detergente, as saponinas são dotadas de efeito tóxico em função de sua propriedade de causar ruptura em eritrócitos, liberando hemoglobina, além de outros efeitos ainda relacionados à lise celular como as ações inseticida, anti-helmíntica e ictiotóxica. Considerando-se as diversas ações farmacológicas da *A. sisalana* e seu amplo uso na medicina popular, torna-se necessário investigar seus possíveis efeitos colaterais na reprodução feminina, os quais ainda não foram relatados na literatura.

Palavras-chave: Sisal, gonadotoxicidade, reprodução, fetotoxicidade.

VIEL, Amanda Martins. **Effects the *Agave sisalana* Perrine extract on ovarian and uterine toxicity, fertility and fetal parameters of rats**. 2016. 54f. Dissertation (Master in Biosciences). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2016.

ABSTRACT

The *Agave sisalana* (sisal) is largely cultivated in Brazil. It was found the presence of five steroidal saponins that plant, responsible for various pharmacological activities, especially the anti-fungal and anti-inflammatory activities. Popularly, sisal is also used for the treatment of liver diseases, tuberculosis and syphilis. Due to its detergent action, saponins are equipped with toxic effect due to its property to cause disruption in erythrocytes, releasing hemoglobin, and other effects still related to cell lysis as the actions insecticide, anthelmintic and ichthyotoxic. Considering the various pharmacological actions of *A. sisalana* and its widespread use in folk medicine, it is necessary to investigate their possible side effects on female reproduction, which have not yet been reported in the literature.

Keywords: Sisal, gonadotoxicity, reproduction, fetotoxicity.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	11
Plantas medicinais.....	11
<i>Agave sisalana</i> Perrine.....	12
Plantas medicinais na reprodução.....	16
OBJETIVOS.....	20
REFERÊNCIAS.....	21
Capítulo Único	
Efeitos do extrato de <i>Agave sisalana</i> Perrine sobre a toxicidade ovariana e uterina, fertilidade e parâmetros fetais de ratas.....	25
Anexo I.....	50
Anexo II.....	52

Introdução

Plantas medicinais

Desde a antiguidade as plantas medicinais são amplamente utilizadas com fins terapêuticos, a fim de tratar, curar e prevenir as mais diversas enfermidades (ASSUNÇÃO; DE MOURA, 2009; RODRIGUES et al., 2011; SANTOS et al., 2011; DUNDER et al., 2013). Para uma parcela da população que não têm acesso ao atendimento primário de saúde, por encontrarem-se muito distantes dos centros de saúde ou por não possuírem recursos financeiros para manter um tratamento alopático, recorrem às terapias alternativas fazendo o uso de drogas vegetais (SILVEIRA; BANDEIRA; ARRAIS, 2008; VEIGA-JUNIOR, 2008; ROQUE; ROCHA; LOIOLA, 2010; SANTOS et al., 2011). Outros fatores, que ainda contribuem para o uso de plantas com fins medicinais, é a facilidade com que são adquiridas e a simplicidade em sua preparação (SANTOS et al., 2011).

Sabe-se que as plantas são capazes de sintetizar diversos compostos químicos denominados metabólitos secundários, que além de participarem do sistema de defesa da planta, como no caso das fitoalexinas, contém também outros metabólitos que possuem atividades farmacológicas comprovadas, como os flavonoides, alcaloides, triterpenos, taninos, lignanas (GURIB-FAKIM, 2006; BOTURA, 2011) e saponinas (GOBBO-NETO; LOPES, 2007).

Existem cada vez mais estudos que demonstram as ações benéficas promovidas no organismo, pelos componentes fitoquímicos presentes nas plantas (SANTOS et al., 2011; DUNDER et al., 2013). Estudos etnobotânicos relatam que diversas plantas apresentam potencial antidiabético comprovado, como a *Aegle marmelos* (bael), a *Aloe barbadensis* (babosa), a *Catharanthus roseus* (vinca-de-gato) (GURIB-FAKIM, 2006) e a *Galega*

officinalis (arruda), esta última responsável pelo desenvolvimento do fármaco metformina, um hipoglicemiante oral amplamente utilizado na medicina tradicional (GURIB-FAKIM, 2006; CAVALLI et al., 2007).

Plantas medicinais têm se mostrado eficientes no tratamento de doenças que acometem o sistema nervoso central, por apresentarem ações hipnóticas e sedativas, como a *Valeriana officinalis* (valeriana), a *Piper methysticum* (kava-kava) e o *Hypericum perforatum* (erva-de-são-jão) (GURIB-FAKIM, 2006). Outras drogas vegetais com atividade anti-inflamatória e antioxidante são utilizadas para tratar distúrbios cardiovasculares, responsáveis por muitas mortes em todo o mundo, pois melhoram as condições que envolvem a circulação sanguínea. A atividade anti-inflamatória pode ser atribuída à presença de saponinas, enquanto a atividade antioxidante à presença de flavonoides e, entre as plantas que têm se destacado para esses fins, podemos citar a *Aesculus castanea* (castanha-da-Índia) e o *Ginkgo biloba* (Ginkgo biloba) (GURIB-FAKIM, 2006).

Embora existam estudos a respeito da utilização, da eficácia e da toxicidade das plantas medicinais, as bases científicas com informações adequadas que comprovem reais propriedades toxicológicas ainda são muito escassas e, com isso, existe um conceito errôneo de que os produtos de origem natural são isentos de efeitos colaterais no organismo e não representam quaisquer perigos para a saúde humana (VEIGA-JUNIOR, 2008; ASSUNÇÃO; DE MOURA, 2009; SANTOS et al., 2011).

***Agave sisalana* Perrine**

Originária da península de Yukatan, no México, a planta *Agave sisalana*, popularmente conhecida como sisal (MARTIN et al., 2009; QUEIROZ et al., 2012) é uma monocotiledônea, pertencente à família Agavaceae, subfamília Agavoidea (QUEIROZ et al.,

2012), gênero *Agave* e subgênero *Euagave*. É amplamente cultivada em território brasileiro, mais especificamente na região do Nordeste (MARTIN et al., 2009; BOTURA, 2011; QUEIROZ et al., 2012) em função do clima semiárido (DUNDER et al., 2013). É uma planta semixerófila resistente à secas prolongadas e a altas temperaturas (QUEIROZ et al., 2012).

O Brasil é o principal produtor e exportador mundial de sisal, responsável por 69% da produção global (RIBEIRO; BARRETO; COELHO, 2015), onde apenas 4% das folhas são aproveitadas para a extração de suas fibras, na fabricação de cordas, barbantes, cabos marítimos, tapetes, sacos, vassouras, estofamentos, artesanatos, além de possuírem aplicações na indústria de plástico, onde são utilizadas como reforço para polímeros comerciais, tais como o polietileno e a borracha natural (MATTOSO et al., 1996; MARTIN et al., 2009). Estes são utilizados para a fabricação de pasta celulósica para produção do papel Kraft de alta resistência e de outros tipos de papel fino, como para cigarro, filtro e absorvente higiênico (MATTOSO et al., 1996). Já na indústria automobilística as fibras de sisal são utilizadas nos estofamentos de veículos de luxo importados, pois uma das grandes vantagens do uso dessas fibras vegetais é a sua ausência de toxicidade, já que a espuma de poliuretano à base de isocianato utilizada usualmente libera durante a sua combustão o gás cianídrico, altamente tóxico (MARTIN et al., 2009). O resíduo descartado das folhas de sisal é destinado à suplementação na alimentação de animais ruminantes, adubo orgânico e para fins terapêuticos (MARTIN et al., 2009; BOTURA, 2011).

A *Agave sisalana* (Figuras 1 e 2) é uma herbácea com apenas um eixo principal, com um caule curto situado no nível do solo, no qual as folhas se inserem e armazenam água e nutrientes. As folhas são longas, rígidas, convexas e de coloração verde. Possui comprimento médio entre 90 e 160 centímetros, embora possam alcançar até dois metros (DOMINGUES, 2008; BOTURA, 2011; MIRANDA, 2011). É uma planta de ciclo perene, que floresce apenas uma vez durante seu ciclo vegetativo e essa inflorescência permanece presente até a morte da

planta, em média de 10 a 15 anos de ciclo (DOMINGUES, 2008; DEBNATH et al., 2010; BOTURA, 2011; MIRANDA, 2011).



Figura 1- *Agave sisalana* Perrine adulta.

Fonte: <http://fingoen.blogjardin.com/archive/2009/11/27/agave-sisalana.html>



Figura 2 – (A) Inflorescência, (B) Fruto maduro e (C) Corte do fruto com sementes de *Agave sisalana* (BOTURA, 2011).

Por meio de técnicas espectroscópicas, saponinas esteroidais de diferentes espécies de sisal foram identificadas estruturalmente. Da espécie *A. sisalana* foram reportados o

isolamento e a determinação das estruturas de cinco saponinas esteroidais (DING et al., 1993), sendo a hecogenina (Figura 3) o composto presente em maior abundância (DEBNATH et al., 2010; BOTURA, 2011; DUNDER et al., 2013) e encontrada em maior concentração em folhas maduras (BOTURA, 2011).

A hecogenina pode ser facilmente obtida através da hidrólise ácida ou enzimática do suco das folhas de *A. sisalana*, considerada um precursor de diversos esteroides farmacologicamente ativos, o que comprova através de evidências químicas e fitoquímicas a importância farmacológica desta planta (DING et al., 1993; DOMINGUES, 2008; BOTURA, 2011; DUNDER et al., 2013).

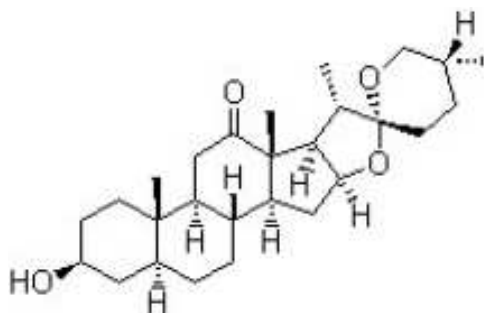


Figura 3 – Representação estrutural da hecogenina (DOMINGUES, 2008).

O interesse da indústria farmacêutica por esse grupo de substâncias tem aumentado, em decorrência das inúmeras atividades apresentadas pelas saponinas, destacando-se as atividades antifúngica e anti-inflamatória (LACAILLE-DUBOIS; WAGNER, 1996; FRANCIS et al., 2002; BOTURA, 2011; DUNDER et al., 2013). Popularmente o sisal é utilizado para o tratamento de doenças hepáticas, tuberculose e sífilis (DEBNATH et al., 2010), entretanto, devido à sua ação detergente, as saponinas são dotadas de efeito tóxico em função de sua propriedade de causar ruptura em eritrócitos, liberando hemoglobina (ODA et al., 2000; SIMÕES et al., 2010; BOTURA, 2011). Outros efeitos tóxicos ainda relacionados à

lise celular são as ações inseticida, anti-helmíntica e ictiotóxica (SCHENKEL et al., 1997; BOTURA, 2011).

A toxicidade de uma substância que apresenta atividade farmacológica deve sempre ser determinada, a fim de evitar a ocorrência de efeitos nocivos ao organismo ocasionados por intoxicação (LARINI, 1997). Neste contexto, nos estudos toxicológicos um importante fator a ser considerado é a dose que será empregada, ou seja, a quantidade do xenobiótico que será administrada a um organismo vivo (LARINI, 1997; OGA, 2003).

Considerando as diversas atividades farmacológicas desempenhadas pela espécie *A. sisalana*, em função do alto teor de saponinas, ricas em hecogenina (DING et al., 1993; DOMINGUES, 2008; DUNDER et al., 2013), torna-se necessário a realização de pesquisas direcionadas à investigação da toxicidade reprodutiva e fetal desta planta, uma vez que seu suco é utilizado na medicina popular para o tratamento de várias doenças e também suas fibras utilizadas como alimento aos animais em pequenas propriedades rurais do sertão nordestino (DOMINGUES, 2008).

Plantas medicinais na reprodução

Diversos compostos sintetizados pelas plantas podem promover prejuízos nas funções dos órgãos reprodutivos, no sistema endócrino e nervoso, quando administrados de maneira indiscriminada. Nas mulheres, os efeitos mais preocupantes que envolvem o sistema reprodutor estão relacionados a irregularidades no ciclo menstrual, sangramentos durante o período gestacional e aborto, enquanto nos fetos os efeitos teratogênicos (SANTOS, 2014) e embriotóxicos são os mais preocupantes, uma vez que esses compostos podem atravessar a placenta (RODRIGUES et al., 2011; ARCANJO et al., 2013).

Existem muitas plantas na medicina popular que possuem efeito abortivo comprovado como *Angelica archangelica* (angélica), *Himathanthus sucuuba* (sucuíba), *Rosmarinus officinales* (alecrim), *Arnica Montana* (arnica), *Cinnamomum canphora* (cânfora), *Symphytum officinale* L. (confrei), *Eucaliptus globulus* (eucalipto), *Cassia angustifolia* e *Cassia acutifolia* (sene), pois são capazes de estimular a motilidade uterina (VEIGA-JUNIOR; PINTO; MACIEL, 2005). Estudos realizados com ratas Wistar prenhes comprovaram também que plantas como *Ruta graveolens* (arruda) (GONZALES et al., 2006), *Stryphnodendron adstringens* (barbatimão) (VITRAL; PETERS; GUERRA, 1987), *Lantana camara* (camará) (MELLO et al., 2005), *Plectranthus barbatus* (falso boldo) (ALMEIDA; LEMONICA, 2000) e *Vitis vinifera* (vidreira) (CHAN; NG, 1995), além de apresentarem efeitos prejudiciais à matriz, podem também ser tóxicas para os fetos.

Há relatos na literatura que comprovaram que o *Peumus boldus* (boldo-do-chile) demonstrou efeito teratogênico (MENGUE; MENTZ; SHENKEL, 2001) e abortivo (ALMEIDA; MELO; XAVIER 2000), enquanto o *Plectranthus barbatus* (falso boldo) quando administrado no período pré-implantação apresentou elevação na taxa de perda pré-implantacional e desenvolvimento retardado dos fetos, nas ratas tratadas com o extrato dessa planta (ALMEIDA; LEMONICA, 2000).

A *Ruta graveolens* (arruda) demonstrou efeitos embriotóxico e teratogênico comprovados em testes realizados a partir do extrato aquoso de suas folhas, durante o período pós-implantação. Já nos testes realizados com sementes de *Stryphnodendron polyphyllum* (barbatimão) em ratas prenhes, observou-se diminuição no peso dos ovários e no peso e medidas dos corpos lúteos gravídicos, além de morte embrionária (VITRAL; PETERS; GUERRA, 1987).

A planta *Artemisia vulgaris* (artemísia) quando administrada em baixa concentração, considerada insuficiente para interromper uma gestação, pode resultar em toxicidade para a gestante e para o feto (CALLIARI, 1998).

Extratos hidroalcoólicos de *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) mostraram-se abortivos por atuarem no período pré-implantacional dos embriões no útero (MONTANARI; BELILACQUA, 2002) e o chá de *Baccharis genistelloides* (carqueja) é contraindicado para gestantes, em função do seu efeito abortivo (RUIZ et al., 2008).

Entre as plantas medicinais que apresentam saponinas esteroidais, destaca-se o *Korean ginseng* (ginseng), que quando administrado em ratas submetidas ao protocolo da superovulação com gonadotrofina sérica de égua prenhe, foi responsável pelo aumento da qualidade dos oócitos e redução da atresia folicular (YU et al., 2003).

Vários estudos referentes aos efeitos farmacológicos de diversas plantas medicinais são realizados, sendo que na maioria desses estudos são avaliados os efeitos das plantas sobre a embriofetotoxicidade. Estudos farmacológicos indicam que o suco obtido a partir de folhas de sisal estimula a musculatura uterina, reduz a pressão sanguínea e pode provocar aborto em fêmeas gestantes (SHARAF; ZAHRAN, 1967), entretanto não há relatos na literatura quanto ao seu possível efeito tóxico no tecido reprodutivo feminino. São escassos os relatos a respeito dos efeitos dos componentes fitoquímicos de plantas medicinais na toxicidade morfológica reprodutiva, principalmente em fêmeas (RODRIGUES et al., 2011; KUNTZE et al., 2012).

Estudos realizados por Mendes e Camargo (2012) demonstraram que os constituintes esteroidais da planta *A. sisalana* foram capazes de promover efeitos deletérios sobre o tecido gonadal masculino de ratos adultos, prejudicar a fertilidade e aumentar a taxa de perda embrionária pós-implantação. Desta forma, é importante ampliar o conhecimento dos efeitos

causados pela *A. sisalana* na estrutura tecidual dos órgãos reprodutivos e avaliar os possíveis efeitos sobre a fertilidade e produtos gestacionais de modelos animais.

Conclusões

Concluiu-se que a administração do EHA de *Agave sisalana* não apresentou efeito gonadotóxico e não alterou as características morfológicas do tecido uterino. Porém, a utilização desta planta medicinal pela população feminina deve ser vista com cautela, haja vista que o extrato de sisal, administrado no período de pré-concepção, na dose de 100 mg/kg,

promoveu fetotoxicidade caracterizada pelo aumento no peso fetal e redução no tamanho da ninhada.

Referências

- Auterhoff, H. & Kovar, K.-A. Identifizierung von Arzneistoffen. 5 ed. Stuttgart: Wissenschaftliche, 1985.
- Bacchi, E. M. Controle de qualidade de fitoterápicos. In: Di Stasi, L. C. (org.). Plantas Medicinais: Arte e ciência. São Paulo: Universidade Estadual Paulista, 1996. p. 169-197.
- Banskota, A. H.; Tezuka, Y.; Adnyana, I. K.; Midorikawa, K.; Matsushige, K.; Message, D.; Huertas, A. A. G. & Kadota, S. Cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *J. Ethnopharmacol*, 72: 239-246, 2000.
- Botura, M. B. Avaliação anti-helmíntica e toxicológica de extratos e frações do resíduo de *Agave sisalana*. Feira de Santana, 2011. Tese (Doutorado em Biotecnologia) – Universidade Estadual de Feira de Santana, 2011.
- Brolio, M. P.; Ambrósio, C. E.; Francioli, A. R.; Morini, A. C.; Guerra, R. R. & Miglino, M. A. A barreira placentária e sua função de transferência nutricional. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 34:222-32, 2010.
- Cetin, I. & Alvino, G. Intrauterine growth restriction: implications for placental metabolism and transport: a review. *Placenta*, 30(Suppl):77-82, 2009.
- Collins, C. H. & Braga, G. L. Introdução a métodos cromatográficos. 3 ed. Campinas: Unicamp, 1988.
- Cordell, G. A. Changing strategies in natural products chemistry. *Phytochemistry*, 40(6): 1585-1612, 1995.
- Debnath, M.; Mukeshwar, P.; Sharma, R.; Thakur, G. S. & Lal, P. Biotechnological intervention of *Agave sisalana*: A unique fiber yielding plant with medicinal property. *J. Med. Plants Res.*, 4:177-87, 2010.
- Ding, Y.; Tian, R. H.; Yang, C. R.; Chen, Y. Y. & Nohara, T. Two new steroidal saponins from dried fermented residues of leaf-juices of *Agave sisalana*. *Chem. Pharm. Bull (Tokyo)*, 41: 557-60, 1993.
- Domingues, L. F. Avaliação da atividade anti-helmíntica do resíduo líquido de *Agave sisalana* Per. (sisal) em caprinos. Salvador, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária, Universidade Federal da Bahia, 2008.
- Dunder, R. J.; Luiz-Ferreira, A.; Almeida, A. C. A. D.; de-Faria, F. M.; Takayama, C.; Socca, E. A. R.; Salvador, M. J.; Mello, G. C.; Santos, C.; Oliva-Neto, P. & Souza-Brito, A. R. M.

Applications of the hexanic fraction of *Agave sisalana* Perrine ex Engelm (Asparagaceae): control of inflammation and pain screening. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 108:263-71, 2013.

Fernandes, E. S.; Pinto, R. M.; de Paula Reis, J. E.; de Oliveira Guerra, M. & Peters, V. M. Effects of *Ginkgo biloba* extract on the embryo-fetal development in Wistar rats. *Birth Defects Res.*, 89(Part B):133-38, 2010.

Francis, G.; Kerem, Z.; Makkar, H. P. & Becker, K. The biological action of saponins in animal systems: a review. *Br. J. Nutr.*, 88:587-605, 2002.

Glasl, H. Zur Photometrie in der Drogenstandardisierung - 3. Gehaltsbestimmung von Gerbstoffdrogen. *Dtsch. Apoth. Ztg.*, 123:1979-1987, 1983.

Gobbo-Neto, L. & Lopes, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Quím. Nova*, 30(2):374-81, 2007.

Gouveia, E. R.; Nascimento, R. D.; Souto-Maior, A. M. & Rocha, G. D. M. Validação de metodologia para a caracterização química de bagaço de cana-de-açúcar. *Quim. Nova*, 32(6): 1500-03, 2009.

Gudmundsson, S.; Dubiel, M. & Sladkevicius P. Placental morphologic and functional imaging in high-risk pregnancies. *Semin. Perinatol.*, 33:270-80, 2009.

Hatano, T.; Edamatsu, R.; Mori, A.; Fujita, Y.; Yasuhara, T.; Yoshida, T. & Okuda, T. Effects of the interaction of tannins with co-existing substances. VI. Effects of tannins and related polyphenols on superoxide anion radical, and on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Chem. Pharm. Bull*, 37: 2016-2021, 1989.

Harbone, J. B. Phytochemical methods. A guide to modern techniques of plant analysis. 2 ed. London: Chapman and Hall, 1973.

Hirshfield, N. A. Development of follicles in the mammalian ovary. *Int. Rev. Cytol.*, 124:43-101, 1991.

Kuntze, L. B.; Kondo, A. K.; Bezerra, B. T. S.; Pinto, T. & Camargo, I. C. C. Estudo comparativo dos efeitos do extrato de *Ginkgo biloba* L. e *Panax ginseng* C. A. Meyer na reprodução de ratos machos e fêmeas Wistar. *Rev. Bras. Plantas Med.*, 14:34-42, 2012.

Lacaille-Dubois M. A. & Wagner, H. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine*, 2:363-86, 1996.

List, P. H. & Schmidt, P. C. Phytopharmaceutical technology. 1 ed. London: Heyden, 1989.

Marcondes, F. K.; Bianchi, F. J. & Tanno, A. P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. *Braz. J. Biol.*, 62:609-14, 2002.

Martin, A. R.; Martins, M. A.; Mattoso, L. H. & Silva, O. R. R. F. Caracterização química e estrutural de fibra de sisal da variedade *Agave sisalana*. *Polímeros*, 19:40-6, 2009.

Mendes, T. B. & Camargo, I. C. C. Efeitos do tratamento com extrato aquoso de sisal (*Agave sisalana*) sobre parâmetros reprodutivos de ratos adultos: avaliação da morfologia e morfometria testicular, morfologia espermática e fertilidade. Assis, 2012. Monografia (Conclusão de Curso Ciências Biológicas) – Faculdade de Ciências e Letras de Assis, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, 2012.

Oda, K.; Matsuda, H.; Murakami, T.; Katayama, S.; Ohgitani, T. & Yoshikawa, M. Adjuvant and haemolytic activities of 47 saponins derived from medicinal and food plants. *Biol. Chem.*, 381:67-74, 2000.

Oluyemi K. A.; Okwuonu U. C.; Baxter D. Grillo & Oyesola T. O. Toxic effects of methanolic extract of *Aspilia africana* leaf on the estrous cycle and uterine tissues of Wistar rats. *Int. J. Morphol.*, 25(3):609-614, 2007.

Osman, P. Rate and course of atresia during follicular development in the adult cyclic rat. *J. Reprod. Fertil.*, 73:261-70, 1985.

Palacios, J. L.; Quinta, A. R. M.; Kuruiwa, D. & Santos, L. Potencial anti-inflamatório e fitoquímico dos extratos de agave sisalana. In: XXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2013, Assis. XXV Congresso de Iniciação Científica da Unesp, 2013.

Queiroz, S. R. D. O. D.; Ortolani, F. A.; Mataqueiro, M. F.; Osuna, J. T. A. & Moro, J. R. Chromosomal analysis of immature bulbs of sisal (*Agave* spp.) cultivated in different districts in Bahia, Brazil. *Acta Bot. Bras.*, 26(4):842-48, 2012.

Riquelme, G. Placental chloride channels: a review. *Placenta*, 30:659-69, 2009.

Rodrigues, H. G.; Meireles, C. G.; Lima, J. T. S.; Toledo, G. P.; Cardoso, J. L. & Gomes, S. L. Efeito embriotóxico, teratogênico e abortivo de plantas medicinais. *Rev. Bras. Plantas Med.*, 13(3):359-66, 2011.

Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Montanha, J. A.; Heizmann, B. M.; Athayde, M. L.; Taketa, A. T. C.; Pires, V. S. & Guillaume, D. Saponins from maté (*I. paraguariensis*) and other south american *Ilex* species: ten years research on *Ilex* saponins. *Ciê. Cult. (São Paulo)*, 49(5/6):359-63, 1997.

Sharaf, A. & Zahran, M. Pharmacological investigation on *Agave sisalana* Perr., with special study of its ecobolic effect. *Plant Foods Hum. Nutr. (Formerly Qualitas Plantarum)*, 14(4):345-51, 1967.

Shivalingappa, H.; Satyanarayan, N. D.; Purohit, M. G.; Sharanabasappa, A. & Patil, S. B. Effect of ethanol extract of *Rivea hypocrateriformis* on the estrous cycle of the rat. *J. Ethnopharmacol.*, 82(1):11-7, 2002.

Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosmann, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A. & Petrovick, P. R. Farmacognosia: Da planta ao medicamento. 6 ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS/EDUFSC, 2010.

Thrower, S. & Lim, L. The nuclear oestrogen receptor in the female rat. Effects of oestradiol administration during the oestrous cycle on the uterus and contrasting effects of progesterone on the uterus and hypothalamus. *Biochem. J.*, 198(2):385-89, 1981.

Vigo, C. L. S.; Narita, E. & Marques, L. C. Validação da metodologia de quantificação espectrofotométrica das saponinas de *Pfaffia glomerata* (Spreng). Pedersen – Amaranthaceae. *Rev. Bras. Farmacogn.* 13(2): 46-49, 2003.

Yang, S. H. U.; Mei, C. A. O.; Zhong-Qiong, Y. I. N.; Ping, L. I.; Tai-Qiang, L. I.; Xing-Fa, L. O. N. G.; Lian-Fa, Z. H. U.; Ren-Yong, J. I. A.; Shu-Jun, D. A. I. & Jian, Z. H. A. O. The reproductive toxicity of saponins isolated from Cortex Albiziae in female mice. *Chin. J. Nat. Med.*, 13(2):119-26, 2015.

Yu, W. J. Modulating effects of *Korean ginseng* saponins on ovarian function in immature rats. *Biol. Pharm. Bull.*, 26(11):1574-80, 2003.