



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
ESCOLA DE ENFERMAGEM E FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENFERMAGEM

RAÍSSA FERNANDA EVANGELISTA PIRES DOS SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Tabebuia aurea* (Silva Manso)
Benth. & Hook. f. ex. S. Moore

MACEIÓ
2014

RAÍSSA FERNANDA EVANGELISTA PIRES DOS SANTOS

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL BIOLÓGICO DE *Tabebuia aurea* (Silva Manso)

Benth. & Hook. f. ex. S. Moore

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Orientadora: Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto

Coorientadora: Profa. Dra. Maria Lysete de Assis Bastos

**MACEIÓ
2014**

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico Bibliotecária
Bibliotecária: Maria Helena Mendes Lessa

- S237a Santos, Raíssa Fernanda Evangelista Pires dos.
Avaliação do potencial biológico de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore / Raíssa Fernanda Evangelista Pires dos Santos. – Maceió, 2014.
77 f. : il.
- Orientadora: Eliane Aparecida Campesatto.
Coorientadora: Maria Lysete de Assis Bastos.
Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Universidade Federal de Alagoas. Escola de Enfermagem e Farmácia. Maceió, 2014.
- Bibliografia: f. 64-75.
Anexos: f. 76-77.
1. Enfermagem. 2. Plantas medicinais. 3. *Tabebuia aurea*. - Potencial biológico. I. Título.

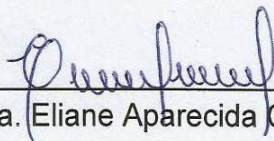
CDU: 616-083:615.076

Folha de Aprovação

AUTOR: Raíssa Fernanda Evangelista Pires dos Santos

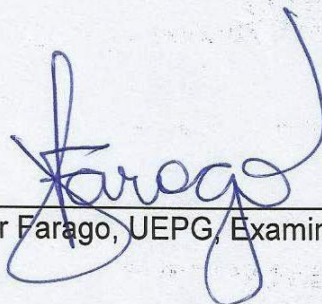
“Avaliação do Potencial Biológico de *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. F. ex. S. Moore” / Dissertação de Mestrado em Enfermagem, da Universidade Federal de Alagoas.

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem e Farmácia da Universidade Federal de Alagoas, Área de Concentração: enfermagem no cuidado em saúde e na promoção da vida, Linha de Pesquisa: Enfermagem, Ciência, Tecnologia e Inovação para o Cuidado, aprovada em 17 de dezembro de 2014.

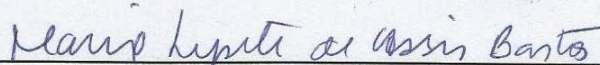


Prof.^a Dra. Eliane Aparecida Campesatto, UFAL, Orientadora

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Paulo Vitor Farago, UEPG, Examinador Externo



Prof.^a Dra. Maria Lysete de Assis Bastos, UFAL, Examinador Interno

Primeiramente a Deus, responsável por todas as minhas conquistas. Sem Ele nada disso teria sentido. Aos meus amados pais, Esmeralda e Manoel, ao meu irmão Eduardo e minha vovó Corina, sempre presentes e atuantes em minha vida, sendo este um dos resultados de todo o apoio e amor incondicional. Ao meu amor, Olympio Júnior, por sempre estar ao meu lado. E às Professoras, Lysete e Eliane, fundamentais em minha caminhada acadêmica.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por sua infinita misericórdia e amor, pois se cheguei até aqui devo a ti, Pai;

Aos meus maravilhosos pais, Esmeralda e Manoel, sempre presentes e me apoiando incondicionalmente em todos os momentos da minha vida, amo muito vocês;

À minha vovó Corina e ao meu irmão Eduardo, meus amores, que fazem a minha vida mais feliz, sem vocês nada disso teria sentido;

Ao meu amor, companheiro e amigo de todas as horas, Olympio Júnior, pelo amor incondicional e paciência nos momentos difíceis;

À minha orientadora, Profa. Dra. Eliane Aparecida Campesatto, por ter me acolhido tão calorosamente, pela confiança em mim depositada e pelos ensinamentos tão valiosos;

À minha coorientadora, Profa. Dra. Maria Lysete de Assis Bastos, por sempre estar presente em minha vida acadêmica desde a graduação até aqui, pelos ensinamentos e por sempre acreditar em meu potencial;

À Profa. Dra. Magna Suzana Alexandre-Moreira por ter me acolhido no LaFI, por aceitar o convite para compor a banca de qualificação e pelas suas contribuições;

Ao Prof. Dr. Paulo Vitor Farago, por aceitar o convite para compor a banca de defesa e pelas suas valiosas contribuições;

Aos docentes do Programa de Pós-graduação em Enfermagem, pela oportunidade de aprendizado durante todo o mestrado, em especial, à Profa. Ingrid Martins, ao secretário Charles Zabala e ao Daniel, pela ajuda fundamental nas etapas dessa jornada;

Aos professores: Regina Sales, Thais Bernardo e Valter Alvinos, pela ajuda constante, por estarem sempre disponíveis, fazendo-me superar barreiras e escolher o melhor caminho em meio às adversidades;

A todos os graduandos, pós-graduandos, colaboradores e ex-alunos do Laboratório de pesquisa e Tratamento de Feridas (LpTF), onde iniciei minha vida acadêmica; do Laboratório de Pesquisa em Química de Produtos Naturais do Instituto de Química e Biotecnologia (IQB), em especial, Jesu e Jayran, pela valiosa ajuda nos ensaios antioxidantes e fitoquímicos; e do Laboratório de Farmacologia e Imunologia (LaFI), em especial: Max, Morgana, Carol, Aline, Flávio, Walfrido, Carolina e Anderson, pela ajuda constante nos ensaios de viabilidade celular e no ensaio antiedematogênico. Todos colaboraram para o andamento desta pesquisa, com seus conselhos, orientações e disponibilidade;

A toda família da turma de 2013 da Pós, pelas caronas, pelas risadas, pelos momentos maravilhosos compartilhados e apoio nos momentos mais difíceis durante essa caminhada, em especial, Elaine K., Camila, Géssyca, Meirielly, Cintia e, às minhas amigas da turma de 2014, Talita e Fabiani, amo vocês;

A todos os meus amigos, por deixarem a minha vida com um colorido especial;

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Muito obrigada!

*"Há homens que lutam um dia e são bons.
Há outros que lutam um ano e são melhores.
Há os que lutam muitos anos e são muito bons.
Porém, há os que lutam toda a vida.
Esses são os imprescindíveis."*

Bertolt Brecht

RESUMO

O Brasil é considerado um país detentor de uma grande biodiversidade, no qual o uso popular de plantas medicinais contribui como importante fonte para a descoberta de novos compostos ativos. As plantas da família Bignoniaceae e do gênero *Tabebuia* são amplamente utilizadas na medicina tradicional de vários países, para o tratamento de diversas doenças e possuem um excelente potencial para estudos científicos, que podem resultar na descoberta de novos compostos com interesse terapêutico. Nesse contexto, evidenciou-se a necessidade de avaliar o potencial biológico de *Tabebuia aurea*, investigando sua atividade citotóxica, antimicrobiana, antirradicalar, antiedematogênica e conduzindo a prospecção fitoquímica para identificar as classes de compostos bioativos. Foram avaliados dois extratos etanólicos, um proveniente de flores e outro de folhas, ambos submetidos ao ensaio de viabilidade celular pelo método colorimétrico de Metiltetrazólio, para avaliar a presença de citotoxicidade. O potencial antimicrobiano foi avaliado com o teste de microdiluição em caldo, o qual forneceu a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos frente ao crescimento microbiano. Para determinar a ação antiedematogênica, realizou-se o teste de edema de orelha induzido por capsaicina e para a avaliação da atividade antirradicalar, o ensaio que verifica a capacidade sequestradora de radicais livres frente ao radical 2,2-difenil-1-picrilidazila (DPPH). O ensaio de viabilidade celular revelou que o extrato etanólico das folhas não evidenciou citotoxicidade, uma vez que a CL_{50} foi superior a concentração máxima utilizada ($\geq 1,0 \text{ mg mL}^{-1}$), enquanto que o extrato etanólico de flores não teve citotoxicidade nas concentrações $\leq 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Os extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* apresentaram atividade antibacteriana, principalmente, frente às bactérias Gram-positivas. O extrato etanólico de flores demonstrou-se ativo, com ação bactericida, frente à linhagem de *S. epidermidis* na CIM de $0,06 \text{ mg mL}^{-1}$ e o extrato etanólico de folhas moderadamente ativo frente a *S. epidermidis* (CIM: $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$) e *S. aureus* (CIM: $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$), com ação bacteriostática para ambas as linhagens. Ambos os extratos inibiram a formação do edema induzido por capsaicina. O tratamento com o extrato etanólico de flores apresentou uma porcentagem de inibição do edema de 40,50% e o extrato etanólico de folhas de 41,73%. Os extratos etanólicos de *T. aurea* não apresentaram atividade antirradicalar frente ao radical DPPH. Foram identificados na espécie vegetal avaliada a presença de ácidos orgânicos, naftoquinonas, antraquinonas e saponinas. Esses resultados comprovam cientificamente o potencial antiedematogênico da espécie e sua promissora atividade antibacteriana, com ausência de citotoxicidade. Representando indícios de segurança na utilização terapêutica da espécie vegetal nos testes pré-clínicos *in vivo*.

Palavras-chave: Plantas Mediciniais. *Tabebuia aurea*. Ensaio biológicos.

ABSTRACT

Brazil is considered a holder country of a great biodiversity, which the popular use of medicinal plants contributes an important source to discover the new active compounds. Plants of the family Bignoniaceae and *Tabebuia* genus are widely used in traditional medicine in several countries for the treatment of various diseases and have an excellent potential for scientific studies, which may result in the discovery of new compounds having therapeutic interest. In this context, evidence the need to assess the biological potential of *Tabebuia aurea*, investigate their cytotoxic, antimicrobial activity, antiradical, antiedematogenic and lead the phytochemical screening to identify classes of bioactive compounds. We evaluated two ethanolic extracts from flowers and leaves, both subject to cell viability assay Metiltetrazólio by the colorimetric method for assessing the presence of cytotoxicity. The antimicrobial activity was evaluated using the broth microdilution assay, which provided the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extracts against microbial growth. We performed the test ear edema induced by capsaicin to determine the antiedematogenic action and the evaluation of antiradical activity, the test verifies that the scavenging capacity of free radical opposite to 2,2-difenil-1-picrilidazila (DPPH) radical. The cell viability assay showed that the leaves ethanolic extract showed no cytotoxicity, since the LC₅₀ value was greater than the maximum concentration used ($\geq 1,0 \text{ mg mL}^{-1}$), while the flowers ethanolic extract had no cytotoxicity at concentrations $\leq 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$. The ethanol extracts of flowers and leaves of *T. aurea* showed antibacterial activity, especially toward those Gram-positive bacteria. The flowers ethanol extract proved to be active with bactericidal action against the strain of *S. epidermidis* at MIC of $0,06 \text{ mg mL}^{-1}$ and the leaves ethanol extract moderately active against *S. epidermidis* (CIM: $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$) and *S. aureus* (MIC: $0,50 \text{ mg mL}^{-1}$) with bacteriostatic action to both strains. Both extracts inhibited edema formation induced by capsaicin. Treatment with flowers ethanol extract showed a significant inhibition of edema of 40,50% and the ethanol extract of leaves of 41,73%. The ethanol extracts of *T. aurea* showed no antiradical activity against the DPPH radical. The plant species used was identified by the presence of organic acids, naphthoquinones, anthraquinones and saponins. These results scientifically prove the antiedematogenic potential of the species and its promising antibacterial activity, with no cytotoxicity. Representing security evidence on the therapeutic use of plant species in preclinical *in vivo* tests.

Keywords: Plants, Medicinal. *Tabebuia aurea*. Biological Assay.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 - | (A) Espécie <i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore (B) Flores da espécie de <i>Tabebuia aurea</i> | 23 |
| Figura 2 - | Compostos extraídos de cascas do caule de <i>Tabebuia aurea</i> | 24 |
| Figura 3 - | Estrutura química e molecular da Capsaicina (8-metil- <i>N</i> -vanílico-6-Nonenamida)..... | 33 |
| Figura 4 - | Processo de preparação dos extratos etanólicos de <i>T.aurea</i> iniciando pela etapa de trituração, seguido pelo processo de maceração até a obtenção dos extratos etanólicos de flores e de folhas..... | 37 |
| Figura 5 - | Redução do sal de tetrazólio a cristais de formazan por meio das enzimas desidrogenases, presentes nas mitocondriais viáveis, ao final do ensaio de viabilidade celular..... | 41 |
| Figura 6 - | Aplicação tópica de capsaicina, agente flogístico utilizado para indução da reação inflamatória de origem neurogênica, na orelha direita do camundongo para a formação do edema..... | 45 |
| Figura 7 - | (A) Cromatoplasmas após imersão em solução metanólica do radical sintético DPPH• (B) Estrutura química do radical sintético DPPH• (C) Estrutura química da (+)-catequina..... | 46 |
| Figura 8 - | (A) Representação química da reação de redução do radical sintético DPPH• (B) Solução do radical sintético DPPH• de coloração roxa, à esquerda, antes das reações, e à direita, de coloração amarelada, após as reações de redução..... | 49 |
| Figura 9 - | Teste de microdiluição em caldo evidenciando a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos de flores (0,062 mg mL ⁻¹) e de folhas (0,25 mg mL ⁻¹) de <i>Tabebuia aurea</i> frente à linhagem bacteriana de <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 53 |
| Figura 10 - | Cromatoplasmas dos ensaios qualitativos da atividade antirradical dos extratos etanólicos de flores e folhas de <i>Tabebuia aurea</i> após reação com o radical livre sintético DPPH• | 60 |

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Curva de calibração construída a partir dos valores médios de absorbância de cada solução do radical livre sintético DPPH[•] *versus* concentrações utilizadas (1 a 40 µg mL⁻¹) por meio da análise de regressão linear no programa *Microcal OriginPro 8.0*[®] 47
- Gráfico 2 - Viabilidade celular dos macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss* frente aos extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea* nas concentrações 1,0; 0,5; 0,2 e 0,1 mg mL⁻¹ 52
- Gráfico 3 - Porcentagem de inibição do edema de orelha induzido por capsaicina promovida pelos extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea*..... 59
- Gráfico 4 - (A) Curva da percentagem do radical livre sintético DPPH[•] remanescente frente ao extrato etanólico de flores de *Tabebuia aurea* (B) Curva da percentagem do DPPH[•] remanescente frente ao extrato etanólico de folhas de *Tabebuia aurea*..... 61
- Gráfico 5 - Cinética da percentagem do radical livre sintético DPPH[•] remanescente dos padrões sequestradores de radicais livres: ácido gálico e 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (BHT)..... 61

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|--|----|
| Tabela 1 - | Prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos de flores e de folhas de <i>Tabebuia aurea</i> | 50 |
| Tabela 2- | Concentração Letal de 50 % (CL ₅₀) e citotoxicidade máxima dos extratos etanólicos de flores e folhas de <i>Tabebuia aurea</i> frente aos macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem <i>Swiss</i> | 51 |
| Tabela 3- | Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos de flores e folhas de <i>Tabebuia aurea</i> frente aos microrganismos avaliados..... | 54 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-------------------------------------|---|
| ADS | Agar Sabourand Dextrose |
| ABTS | 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)6-ácido sulfônico |
| AMH | Ágar Mueller-Hinton |
| ATCC | American Type Cell Collection |
| BaSO₄ | Sulfato de Bário |
| BHI | Brain Heart Infusion |
| BHT | 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol |
| CMB | Concentração mínima bactericida |
| CHCl₃ | Clorofórmio |
| CH₂Cl₂ | Diclorometano |
| C₂H₅OH | Álcool etílico |
| CIM | Concentração Inibitória Mínima |
| CI₅₀ | Concentração de inibidor necessária para inibir 50% de um parâmetro |
| CL₅₀ | Concentração letal necessária para matar 50% de uma população |
| CLSI | Clinical and Laboratory Standards Institute |
| CO₂ | Dióxido de Carbono |
| DMEM | Meio Dulbecco Modificado por Eagle |
| DMSO | Dimetilsulfóxido |
| DPPH | 2,2-difenil-1-picrilidazila |
| DPPH_{REM} | DPPH remanescente |
| h | Horas |
| FeCl₃ | Cloreto férrico |
| HCl | Ácido clorídrico |

| | |
|----------------------------|--|
| HPLC | Cromatografia Líquida de Alta Eficiência |
| g | Gramma |
| IMA | Instituto do Meio Ambiente |
| MeOH | Metanol |
| MH | Müeller-Hinton |
| mL | Mililitro |
| mg mL⁻¹ | Miligramma por mililitro |
| mm | Milímetro |
| µL (uL) | Microlitro |
| MTT | brometo de 3-[4,5-dimetil-tiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazólio |
| NH₄OH | Hidróxido de amônio |
| nm | Nanômetro |
| Rfs | Fatores de retenção |
| SST | Solução Salina Tamponada |
| TPA | Acetato de 12- <i>o</i> -tetradecanoilforbol |
| TRPV1 | Receptor vaniloide tipo 1 |
| TTC | Cloreto de Trifenil Tetrazólio |
| UFC | Unidade Formadora de Colônia |
| UV | Ultravioleta |
| v/v | Volume/volume |
| °C | Graus Celsius |
| β | Beta |
| µg mL⁻¹ | Microgramma por mililitro |
| µM | Micrômolar |
| µmol L⁻¹ | Micromol por litro |

SUMÁRIO

| | | |
|------------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 | REVISÃO DE LITERATURA | 21 |
| 2.1 | Plantas medicinais | 21 |
| 2.2 | Espécie vegetal estudada – <i>Tabebuia aurea</i> | 23 |
| 2.3 | Atividade antimicrobiana | 28 |
| 2.4 | Inflamação tópica | 31 |
| 2.5 | Compostos antirradicais com potencial antioxidante | 34 |
| 3 | OBJETIVOS | 36 |
| 3.1 | Objetivo geral | 36 |
| 3.2 | Objetivos específicos | 36 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS | 37 |
| 4.1 | Tipo de estudo e locais dos experimentos | 37 |
| 4.2 | Aspectos éticos | 37 |
| 4.3 | Coleta e identificação das amostras vegetais | 37 |
| 4.4 | Preparação dos extratos | 38 |
| 4.5 | Ensaio biológicos | 39 |
| 4.5.1 | Prospecção fitoquímica para identificação de compostos biotivos..... | 39 |
| 4.5.2 | Ensaio de viabilidade celular..... | 40 |
| 4.5.3 | Microdiluição em caldo..... | 42 |
| 4.5.3.1 | Microrganismos utilizados..... | 42 |
| 4.5.3.2 | Preparação do inóculo..... | 42 |
| 4.5.3.3 | Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)..... | 43 |
| 4.5.3.4 | Concentração bactericida..... | 44 |
| 4.5.4 | Avaliação da atividade antiedematogênica..... | 44 |
| 4.5.5 | Avaliação da atividade antirradicalar..... | 46 |
| 4.5.5.1 | Ensaio qualitativos..... | 46 |
| 4.5.5.2 | Obtenção da curva de calibração..... | 47 |
| 4.5.5.3 | Ensaio quantitativos..... | 48 |
| 5 | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 50 |
| 5.1 | Prospecção fitoquímica para identificação de compostos biotivos | 50 |
| 5.2 | Viabilidade celular | 51 |

| | | |
|------------|---|----|
| 5.3 | Concentração inibitória mínima (CIM) | 53 |
| 5.3.1 | Concentração bactericida..... | 55 |
| 5.4 | Atividade antiedematogênica | 58 |
| 5.5 | Atividade antirradicalar | 60 |
| 5.5.1 | Ensaio qualitativo..... | 60 |
| 5.5.2 | Ensaio quantitativo..... | 60 |
| 6 | CONCLUSÕES | 63 |
| | REFERÊNCIAS | 64 |
| | ANEXO A - Certidão de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFAL..... | 76 |
| | ANEXO B - Declaração de registro da espécie vegetal no Instituto do Meio Ambiente (IMA/AL)..... | 77 |

1 INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais tem importância mundial e se tornou alvo de constantes pesquisas. Propriedades biológicas de substâncias presentes em extratos e óleos essenciais produzidos por plantas, provenientes de seu metabolismo secundário, são reconhecidas empiricamente, há séculos, como recurso terapêutico para o tratamento e a prevenção de diversas doenças (PEREIRA et al., 2008; SOUSA et al., 2008).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) reconhece que grande parte da população dos países em desenvolvimento depende da medicina tradicional para a sua atenção primária, tendo em vista que 80% desta população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% utilizam plantas ou preparações destas (CORRÊA, 2006; SANTOS; SEBASTIANI, 2011). Além disso, dos mais de duzentos fármacos considerados como básicos e essenciais pela OMS, 11% são exclusivamente originários de plantas e um número significativo são fármacos sintéticos obtidos de precursores naturais (RATES, 2001).

O Brasil é rico em biodiversidade cujo território possui cinco biomas (Floresta Amazônica, Cerrado, Floresta Atlântica, Pantanal e Caatinga), sendo uma imensa fonte de produtos naturais e terapêuticos (SOUSA et al., 2008). Também possui inúmeras experiências vinculadas ao conhecimento popular das plantas medicinais, pois muitas espécies vegetais destes biomas têm sido utilizadas como medicamentos naturais pelas populações locais, no tratamento de várias doenças tropicais, incluindo esquistossomose, leishmaniose, malária e infecções fúngicas e bacterianas (DUARTE, 2006; SANTOS et al., 2011).

Em 2008, foi realizado um levantamento das plantas e do seu uso com fins terapêuticos na região Nordeste do Brasil, uma área reconhecida por uma rica biodiversidade, principalmente de plantas e de habitats, abrangendo desde a Floresta Amazônica, Floresta Atlântica, sistemas de mangues e dunas costeiras, até florestas secas e savanas. Esse estudo sugeriu a grande importância da investigação das espécies farmacologicamente ainda não estudadas, uma vez que seus usos populares estão registrados (AGRA et al., 2008).

Com a necessidade de que essa base empírica relacionada às plantas tenha comprovação científica em atendimento aos critérios de segurança e eficácia, pesquisadores de várias áreas de conhecimento e indústria farmacêutica agruparam-se, formando equipes

multidisciplinares, para investir em pesquisas básicas do tipo experimental (SANTOS et al.; 2009).

A OMS incentiva a realização dessas pesquisas mediante reuniões de cunho internacional, objetivando investimentos em tecnologia para correlacionar o saber popular ao científico (SANTOS et al., 2009). No Brasil, a utilização e a investigação de plantas medicinais têm como aliados a grande biodiversidade vegetal, o baixo custo associado à terapêutica (SANTOS et al., 2011; BATISTA; VALENÇA, 2012), além do apoio do Ministério da saúde, por meio da criação, em 2006, da Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) no Sistema Único de Saúde (SUS), na qual a fitoterapia foi inserida como parte essencial das políticas públicas de saúde, meio ambiente, desenvolvimento econômico e social (BRASIL, 2006), bem como da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos - PNPMF (BRASIL, 2006a) e do Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos - PNPMF (BRASIL, 2009).

Diante do que foi exposto, fica evidente a necessidade de se buscar novas opções terapêuticas, em uma perspectiva multidisciplinar, com vistas a tratamentos alternativos que agreguem baixo custo e ausência de efeitos colaterais. Para isso, é relevante a intensificação na realização de pesquisas básicas do tipo experimental, buscando na natureza produtos que possam ser utilizados com esta finalidade.

As plantas da família Bignoniaceae apresentam diversos compostos bioativos relatados e diferentes atividades farmacológicas. O relato das atividades biológicas de Bignoniaceae brasileira como antimalárico, antitumoral, antiviral, contra infecções e cicatrizante de feridas tem sido atribuído à presença dos metabólitos secundários, como: naftoquinonas, mangiferina que é uma xantona e vários flavonoides (BRANDÃO; KROON; SANTOS JR, 2010).

Espécies do gênero *Tabebuia* têm sido usadas empiricamente como agentes anti-inflamatórios, antitumorais e antimicrobianos (FRANCO et al., 2013). Resultados de pesquisas básicas pré-clínicas desenvolvidas com este gênero no Laboratório de pesquisa em Tratamento de Feridas pertencente à Universidade Federal de Alagoas (LpTF/UFAL) evidenciaram o potencial antimicrobiano e antirradicalar, com ausência de citotoxicidade (VASCONCELOS et al., 2014; SILVA et al., 2014).

A espécie *Tabebuia aurea*, considerada árvore símbolo do Estado de Alagoas é utilizada popularmente como anti-inflamatória, contra a gripe (AGRA, 1996) e contra o cancro (BANDONI et al., 1976), não possuindo comprovação científica dessas atividades, além de apresentar escassas avaliações sobre suas ações biológicas.

Uma vez que a literatura científica disponível evidencia que as plantas da família Bignoneaceae e do gênero *Tabebuia* são amplamente utilizadas na medicina tradicional de vários países, inclusive do Brasil, para o tratamento de diversas doenças e apresentam potencial para novos trabalhos científicos, que podem resultar na descoberta de compostos químicos de interesse terapêutico, justifica-se a necessidade de avaliar o potencial biológico da espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Plantas medicinais

O uso do poder curativo das plantas tem acompanhado a espécie humana, sendo que as primeiras civilizações perceberam que determinadas espécies continham princípios biologicamente ativos os quais ao serem usados no combate às doenças, revelaram empiricamente seu potencial terapêutico (BADKE et al., 2011).

A obra Pen Ts'ao (“A grande fitoterapia”), do imperador chinês Shen Nung, data do período 2.838-2.698 a.c. e tem sido considerada a primeira referência escrita sobre o uso de plantas medicinais, por descrever cerca de 365 espécies medicinais e venenos. Dentre estes, encontraram-se as espécies de *Ephedra* sp., *Ricinus communis*, além do ópio de *Papaver somniferum*. Estas, por sua vez, fornecem, respectivamente, efedrina, óleo de rícino e morfina, princípios ativos conhecidos e utilizados até hoje (BALICK; COX, 1997; ELGIN; DUNFORD, 2001; FRANÇA et al., 2008).

O uso de plantas medicinais foi influenciado por diferentes culturas e transmitido ao longo das gerações, que as empregaram na forma de chás, emplastos, sucos, dentre outros. No Brasil, a utilização de plantas para o tratamento de doenças decorre da cultura africana, indígena e europeia (MARTINS et al., 2000).

A partir do século XX, iniciaram os estudos científicos sobre plantas utilizadas popularmente, levando à descoberta de diversos fármacos, tais como: a digoxina (*Digitalis* spp.), a quinina e a quinidina (*Cinchona* spp.), a vincristina e a vinblastina (*Catharanthus roseus*), a atropina (*Atropa belladonna*), a artemisinina (*Artemisia annua* L.) e a morfina e codeína (*Papaver somniferum*) (RATES, 2001; SHU, 1998).

São inúmeras substâncias biologicamente ativas encontradas nas espécies vegetais, constituindo-se uma fonte importante de recursos terapêuticos. Alguns exemplos dessa variedade de compostos químicos, provenientes do metabolismo secundário das plantas, são os alcaloides, saponinas, flavonoides e taninos. Sendo assim, as plantas podem atuar como fontes de substâncias terapêuticas, como modelos para novos medicamentos sintéticos ou, ainda, como princípios ativos na produção semi-sintética de moléculas de alta complexidade (SOUSA et al., 2008).

Atualmente, muitos fatores têm contribuído para o aumento da utilização de plantas como recurso medicinal. Dentre eles, o alto custo dos medicamentos industrializados, o difícil acesso da população à assistência médica, bem como a tendência ao uso de produtos de

origem natural, que antes estava situado às margens das instituições de saúde e, hoje, tentam legitimar-se nesse meio dominado pelas práticas alopáticas (BADKE et al., 2011).

Acredita-se que o cuidado realizado por meio de plantas medicinais seja favorável à saúde humana, desde que o usuário tenha conhecimento prévio de sua finalidade, além dos riscos e benefícios. Ademais, o profissional de saúde, deve considerar tal recurso de origem popular na sua prática de cuidar, viabilizando um cuidado singular, centrado nas crenças, valores e estilo de vida das pessoas cuidadas (ISERHARD et al., 2009).

No Brasil, ainda são reduzidas as pesquisas que avaliem o grau de utilização das plantas como medicamentos e sua inserção na cultura popular. Uma análise de 1.320 formulários, preenchidos pela população do interior do estado do Rio de Janeiro e por profissionais da área de saúde, permitiu verificar que as plantas medicinais são as principais formas de tratamento para 63% dos entrevistados, apesar da disponibilidade de medicamentos alopáticos (VEIGA JUNIOR, 2008). Ou seja, mesmo com o incentivo da indústria farmacêutica para utilização de medicamentos industrializados, grande parte da população ainda se utiliza de plantas medicinais para cuidar da saúde, empregada para aliviar ou mesmo curar algumas enfermidades.

A busca da população por essas plantas incentivou os pesquisadores e a indústria farmacêutica a investirem mais nas investigações de novos fármacos. Objetivando minimizar a carência de informações sobre esse tema, pesquisadores de várias áreas de conhecimentos se agruparam e, com o apoio da OMS, bem como outros órgãos internacionais, têm investigado as melhores condições para manter a qualidade, a eficácia e a segurança de plantas medicianais e de medicamentos fitoterápicos (SOARES et al., 2006).

O Brasil, país de grande biodiversidade e de rica diversidade étnica e cultural, é detentor de um valioso conhecimento tradicional e empírico associado ao uso de plantas medicinais. Sendo assim, tem um elevado potencial para o desenvolvimento de pesquisas que resultem em tecnologias e terapêuticas apropriadas ao tratamento de doenças com o uso de plantas.

2.2 Espécie vegetal estudada – *Tabebuia aurea*

Tabebuia aurea (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore (Figura 1) é uma espécie arbórea pertencente à família Bignoniaceae e ao gênero *Tabebuia*, conhecida popularmente como craibeira, caraibeira, ipê-amarelo ou para-tudo. Comum na caatinga, bioma exclusivamente brasileiro, com mais de 900 espécies de plantas, muitas das quais

endêmicas. Esta espécie também é encontrada em áreas de Cerrado, Floresta Amazônica e Pantanal, sendo utilizada para fins ornamentais, medicinais, construção civil, carpintaria e produção de carvão, entre outros (LORENZI, 1992). Segundo o Decreto n° 6.239/85, *T. aurea* é considerada árvore símbolo do Estado de Alagoas.

Figura 1 - (A) Espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore (B) Flores da espécie de *Tabebuia aurea*



(A)

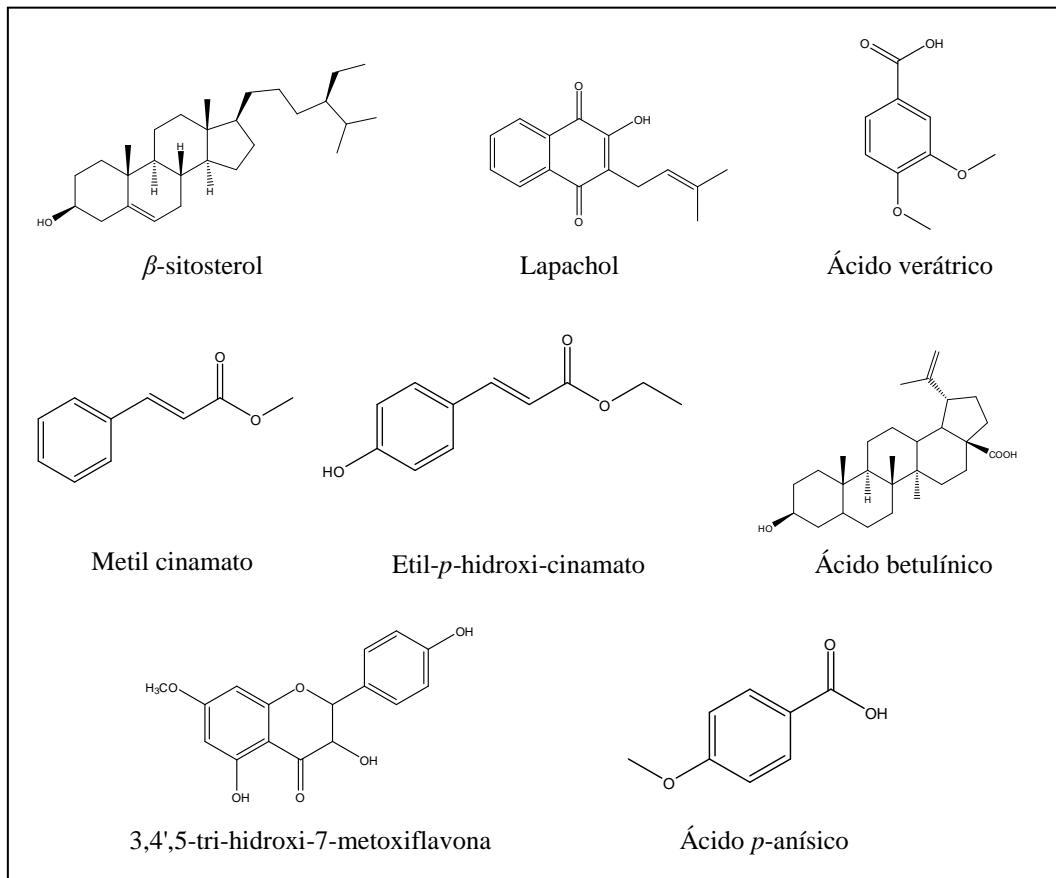


(B)

Fonte: <www.districto13.com.br>

Estudos fitoquímicos realizados com *T. aurea* relataram o isolamento de flavonoides (MAKBOUL et al., 1984; SWARNALAKSHMI et al., 1992) e terpenóides (MAKBOUL et al., 1984). A análise fitoquímica realizada por Barbosa-Filho et al. (2004) evidenciou o isolamento de 8 substâncias a partir das casca do caule de *T. aurea*, sendo três delas já isoladas de outras espécies de *Tabebuias*: β -sitosterol, lapachol e ácido verátrico. E demais substâncias foram: metil cinamato; etil-*p*-hidroxi-cinamato; ácido betulínico; 3,4',5-tri-hidroxi-7-metoxiflavona e ácido *p*-anísico, que embora já conhecidas, foram isoladas pela primeira vez no gênero *Tabebuia* (Figura 2).

Figura 2 - Compostos extraídos de cascas do caule de *Tabebuia aurea*



Fonte: Barbosa-Filho et al., 2004

Todos esses compostos, isolados de *T. aurea*, foram avaliados quanto ao potencial antimicrobiano por meio do teste de difusão em disco. Com exceção do ácido betulínico, os demais inibiram o crescimento dos microrganismos *Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*. Apenas o acetato *p*-hidroxicinamato apresentou fraca atividade contra *Escherichia coli* e um potencial inibitório marcante contra *Candida albicans* (levedura) e *Monilia sitophila* (fungo filamentosos). Segundo Barbosa-Filho et al. (2004), esses resultados dão suporte para alguns dos usos medicinais tradicionais das cascas do caule dessa espécie.

Substâncias como o β -sitosterol, presentes em *Arnebia hispidissima* (Lehm.) DC. demonstraram atividade contra as bactérias *E. coli* e *S. aureus*, em ensaios de difusão em ágar e de concentrações inibitórias mínimas (CIMs) realizados por Virtuoso et al. (2005). O β -sitosterol é um fitoesteroide com estrutura química semelhante à docolesterol, e sua atividade anti-inflamatória também foi comprovada por Gupta et al. (1980), com efeito similar à hidrocortisona em edema induzido por carragenina. O mesmo autor menciona a atividade antipirética do β -sitosterol similar ao ácido acetil salicílico.

O ácido verátrico, isolado de cascas do caule de outra espécie do gênero *Tabebuia*, a *T. impetiginosa*, apresenta além da ação antibacteriana, outras atividades biológicas confirmadas, como ação antifúngica, antioxidante, anti-inflamatória e antispasmódica (ABDOLMALEKI et al., 2013).

O lapachol, isolado de *T. aurea* e com atividade antimicrobiana confirmada por Brabosa-Filho et al. (2004), é uma naftoquinona encontrada em muitas espécies vegetais da família Bignoniaceae, especificamente àquelas do gênero *Tabebuia*, com atividade contra bactérias, fungos, vírus, sendo útil no tratamento de inflamações, e mais importante, de câncer (GÓMEZ et al., 2009).

Estudos realizados por Ferreira et al. (2010) comprovaram inúmeras atividades biológicas e farmacológicas do lapachol, e de alguns dos seus produtos de transformações biossintéticas ou químicas, os quais apresentaram ação citostática, bacteriostática, fungistática, cercaricida, triponossomicida e antitérmica. Silva (2006) evidenciou propriedade anti-inflamatória e ação antinociceptiva, além de efeito hipocolesterolêmico em camundongos hiperlipidêmicos.

Corroborando com essas pesquisas, Hussain et al. (2007) demonstraram em trabalho de revisão que o lapachol e seus derivados têm diversas propriedades biológicas, como: antiulcerogênica, leishmanicida, anticarcinogênica, antiedematogênica, anti-inflamatória, antimalárica, antisséptica, antiviral, bactericida, fungicida, pesticida e esquistossomicida.

Outro estudo avaliou a atividade anti-inflamatória do lapachol *in vivo*, demonstrando que o mesmo foi mais eficaz que a fenilbutazona, um fármaco sintético de ação anti-inflamatória, antipirética e analgésica, na inibição de processos inflamatórios agudos induzidos pelo agente pró-inflamatório carragenina. Da mesma forma, por via oral, promoveu uma proteção significativa contra úlceras gástricas e duodenais (TEIXEIRA, 1999).

Ensaio clínico utilizando o lapachol foram completamente satisfatórios em pacientes com bursites e tendinites (FONSECA et al., 2008). O lapachol apresentou ainda ação anticoagulante, por meio da inibição de enzimas envolvidas na biossíntese da vitamina K, a que possivelmente explicaria esse efeito (TEIXEIRA, 1999).

Os estudos sobre as atividades biológicas de *T. aurea*, propriamente ditas, são escassos, porém essa espécie é usada popularmente como anti-inflamatório e contra a gripe (AGRA, 1996; SOUZA; FELFILI, 2006) e, segundo Bandoni et al. (1976), cascas do caule são utilizadas contra o cancro. Além disso, o extrato etanólico de caules jovens evidenciou atividade moluscicida contra *Biomphalaria glabrata* com concentrações letais médias (9-54

$\mu\text{g mL}^{-1}$) bem abaixo do limite superior de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, estabelecido para o potencial moluscicida pela Organização Mundial de Saúde (SILVA et al., 2007).

Um trabalho realizado no Brasil, no município de Campos de Goytacazes, Rio de Janeiro, forneceu informações sobre as plantas utilizadas como medicinais pela população e sua forma de uso. Entre as mais empregadas é possível citar as espécies de Bignoniaceae. Nesse levantamento destacou-se *Tabebuia aurea*, conhecida como “carobinha”, sendo suas folhas usadas no banho (PEREIRA et al., 2004).

A família Bignoniaceae é constituída por 120 gêneros e 800 espécies, encontradas principalmente nas regiões tropicais e subtropicais de todo o mundo, especialmente da América do Sul e África. No Brasil, ocorrem 32 gêneros e cerca de 350 espécies, sendo considerado o centro de diversificação da família (CHAGAS JUNIOR et al. 2010).

As espécies de *Tabebuia* são encontradas na América do Sul e América Central, sendo conhecidas popularmente como “ipês” e apresentam uma grande diversidade de constituintes químicos, notadamente naftoquinonas e seus derivados, além de iridóides e antraquinonas (VON POSER et al., 2000). Exemplos de *Tabebuia* são usadas popularmente como agentes anti-inflamatórios, antitumorais e antimicrobianos em áreas rurais do Brasil, Colômbia, Bolívia e outros países latino-americanos (FRANCO et al., 2013).

Na etnofarmacologia brasileira, uma mistura popular de sete plantas tem demonstrado ser útil para melhorar o sistema imune, ativando maciçamente os mecanismos oxidativos celulares, bem como promovendo o aumento de resistência às células tumorais. Essa composição de ervas inclui em sua preparação o extrato de *Tabebuia avellanadae* (CORRÊA et al., 2006). Também, foi comprovado por França et al. (2010), que essa mistura, é um potente agente imunoestimulante e pode representar um mecanismo alternativo de defesa contra infecções.

Byeon et al. (2008) avaliaram a ação anti-inflamatória do extrato aquoso de *T. avellanadae* e observaram que essa atividade foi proveniente da modulação negativa de respostas inflamatórias mediadas por macrófagos, ocasionada pela supressão da produção de prostaglandinas. Ainda, segundo os autores, este extrato poderia ser desenvolvido como um novo medicamento para a terapêutica de várias doenças inflamatórias, tais como a artrite.

Nos últimos anos, tem-se verificado o uso mais frequente de espécies de Bignoniaceae na medicina. Agra et al. (2008) relataram que o macerado de folhas de *Jacaranda caroba* em aguardente pode ser aplicado externamente como cicatrizante e contra úlceras. Já se observou, também, atividade bactericida (PARK et al., 2005), fungicida (PORTILLO et al., 2001),

antiofídica (NUÑEZ et al., 2004) e antitumoral (CHENNA et al., 2001) de substâncias presentes no cerne do tronco e na casca de *Tabebuia*.

Hemamalini et al. (2012) demonstraram a atividade antiúlcera em ratos do extrato de folhas de *Tabebuia rosea*, correlacionando à presença de fito-componentes, como: saponinas e flavonoides. O extrato etanólico de folhas dessa mesma espécie revelou notável atividade antimicrobiana contra várias bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (BINUTU; LAJUBUTU, 1994).

Outra pesquisa, que avaliou o potencial antimicrobiano da espécie vegetal *Tabebuia roseo-alba* (ipê branco), mostrou moderada atividade antimicrobiana parabactérias Gram-positivas e Gram-negativas (SILVA et al., 2014). O extrato etanólico de folhas da espécie *T. impetiginosa* também evidenciou promissora atividade antimicrobiana e não apresentou citotoxicidade (VASCONCELOS et al., 2014).

A literatura científica disponível sobre a família Bignoniaceae e o gênero *Tabebuia*, comprova algumas atividades biológicas, conforme o Quadro 1 indicando o excelente potencial dessas espécies na descoberta de novos compostos com interesse terapêutico.

Quadro 1. Levantamento bibliográfico sobre as atividades biológicas comprovadas de espécies do gênero *Tabebuia*

(Continua)

| Espécie | Atividade biológica comprovada | Referência(s) |
|-----------------------------|--|--|
| <i>Tabebuia caraiba</i> | Atividade antifúngica <i>in vitro</i> frente ao <i>Trichophyton rubrum</i> | Silva; Paula; Espindola, (2009) |
| <i>Tabebuia aurea</i> | Compostos isolados da casca do caule apresentaram um amplo espectro de atividade contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas, contra micobactéria e fungos; Atividade moluscicida contra <i>Biomphalaria glabrata</i> | Barbosa-Filho et al. (2004) Silva et al. (2007) |
| <i>Tabebuia avellanedae</i> | Atividade anti-candida <i>in vitro</i> ; Atividade cicatrizante de feridas cutâneas <i>in vivo</i> ; Atividade cicatrizante de úlcera gástrica <i>in vivo</i> ; Atividade antioxidante <i>in vitro</i> ; Os compostos isolados e sintetizados evidenciaram efeitos anti-proliferativo contra várias linhagens de células tumorais humanas, atividade antifúngica e modesta atividade antibacteriana frente às linhagens de bactérias Gram-positivas <i>in vitro</i> ; Atividade anti-inflamatória <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> ; Atividade moduladora de macrófagos e monócitos para controlar a interação célula- | Höfling et al. (2010); Glehn; Rodrigues (2012); Coelho et al. (2010); Lipinski et al. (2012); Pereira et al. (2013) Suo et al. (2013); Yamashita et al. (2009); Suo et al. (2012); Xu et al. (2013); Kim et al. (2010); |

Quadro 1 - Levantamento bibliográfico sobre as atividades biológicas comprovadas de espécies do gênero *Tabebuia*

(Conclusão)

| Espécie | Atividade biológica comprovada | Referência(s) |
|------------------------------|---|---|
| <i>Tabebuia avellanedae</i> | célula imune no sistema de defesa do hospedeiro; Atividade imunestimulante; Atividade antibacteriana frente às linhagens de <i>Staphylococcus</i> resistentes à meticilina <i>in vitro</i> ; Atividades antiedematogênica, antinociceptiva e atóxica <i>in vivo</i> ; Atividade promissora contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i> | França et al. (2010); Pereira et al. (2006); Miranda et al. (2002); Olivera et al. (2007) |
| <i>Tabebuia serratifolia</i> | Moderada atividade tripanossomicida <i>in vitro</i> | González-Coloma et al. (2012) |
| <i>Tabebuia heptaphylla</i> | Atividade gastroprotetora (Lapachol) <i>in vivo</i> ; Atividade contra infecções fúngicas vaginais; Atividade antioxidante | Theoduloz et al. (2012); Jordan (2005); Varonezi (2008) |
| <i>Tabebuia impetiginosa</i> | Atividade antiviral <i>in vitro</i> ; Atividade antibacteriana <i>in vitro</i> ; principalmente sobre bactérias Gram-positivas | Brandão et al. (2010); Cordeiro et al. (2006); Ospina et al. (2013); Vasconcelos et al. (2014) |
| <i>Tabebuia rosea</i> | Atividade antiedematogênica contra o veneno de <i>Bothrops asper</i> <i>in vivo</i> ; Atividade anti-inflamatória e antioxidante; Atividade antiúlcera | Núñez et al.(2004) Ospina et al. (2013) Hemamalini et al. (2012) |
| <i>Tabebuia roseo-alba</i> | Atividade antibacteriana | Silva et al., 2014 |
| <i>Tabebuia chrysanta</i> | Efeito imunomodulador <i>in vitro</i> ; Atividade anti-inflamatória <i>in vivo</i> ; Atividade antioxidante <i>in vitro</i> ; Atividade antibacteriana | Cárdenas et al. (2009); Cárdenas et al. (2012); Ospina G. et al. (2011); Perez et al. (2007) |
| <i>Tabebuia pentaphylla</i> | Atividade antibacteriana | Rocha et al. (2013) |
| <i>Tabebuia ochracea</i> | Atividade anti-inflamatória; antioxidante e antibacteriana | Ospina et al. (2013) |

Fonte: Autora, 2014

Notas: Levantamento bibliográfico utilizando-se as bases de dados: SciELO, LILACS, MEDLINE, SciFinder, PubMed e Scopus e descritores indexados na lista dos sistemas DeCS: *Tabebuia*, Cicatrização de feridas, Antioxidante, Antimicrobianos, Agentes Anti-inflamatórios, adotando a estratégia de agrupar o descritor *Tabebuia* com os demais.

2.3 Atividade antimicrobiana

Os microrganismos compreendem bactérias, fungos, vírus e protozoários que podem ser nocivos, ou seja, patogênicos, causando doenças no homem, animais e plantas. Em condições favoráveis do ambiente, eles se reproduzem rapidamente, por meio da divisão celular (PELCZAR JÚNIOR et al., 2005).

Os mecanismos de ação dependem do grau de virulência dos microrganismos, os quais envolvem estruturas, produtos ou estratégias que contribuem para aumentar a sua capacidade de causar infecção, com a produção de toxinas que induzem a formação de citocinas pró-inflamatórias e exotoxinas que lesam diferentes células, levando a necrose tecidual. Os microrganismos contribuem ainda para a diminuição das proteínas que favorecem a quimiotaxia, aumentam a produção de enzimas citotóxicas e de radicais livres, e acentuam a hipóxia, o que promove o aumento da lesão tecidual (TRABULSI; ALTERTHUM, 2006; SCHULTZ et al., 2003).

Dos vários gêneros de bactérias que foram identificadas como causadoras de infecções, encontra-se o *Staphylococcus*. Esse é o gênero de bactérias não esporuladas que mais resistem no meio, pois conseguem sobreviver por vários meses em amostras clínicas secas, resistem ao calor e suportam uma concentração aumentada de sal. Por isso que esse grupo de microrganismos constitui-se como um dos mais importantes patógenos para o homem, apesar dos antimicrobianos existentes, da melhora das condições sanitárias e das medidas de controle de infecção hospitalar (TRABULSI; ALTERTHUM, 2006).

Indivíduos sadios são colonizados intermitentemente por *Staphylococcus aureus*. Este microrganismo pode contaminar a pele e membranas mucosas do paciente, objetos inanimados ou outros pacientes por contato direto ou por aerossol, ocasionando infecções letais, oriundas dos fatores de virulência ou resistência adquirida aos antimicrobianos utilizados (ANVISA, 2004).

Staphylococcus aureus é considerado como um dos mais importantes agentes etiológicos de processos infecciosos, pois abrangem desde lesões superficiais, proveniente de contaminação da bactéria na própria pele e mucosas, que resultam em abscessos cutâneos e infecções de feridas; até severas infecções sistêmicas, que surgem a partir desses focos de infecções superficiais (DEALEY, 2006). Sendo por isso, considerada a espécie mais virulenta do gênero *Staphylococcus*, apresentando inúmeros fatores de virulência, tais como toxinas, enzimas e proteínas associadas à parede celular, mediadas por genes plasmidiais ou cromossomiais, que conduzem a invasão tecidual e a sobrevivência no sítio infeccioso; além de apresentar grande resistência adquirida aos mais diversos antimicrobianos (BLATT; PIAZZA, 2004; CATÃO et al., 2010).

Outra espécie desse mesmo gênero, a cepa de *S. epidermidis*, não apresenta um grande arsenal de enzimas e toxinas e, por esse motivo, o curso das infecções segue com subagudização ou mesmo cronificação. O sucesso deste microrganismo como patógeno relaciona-se à sua capacidade de aderir a superfícies de polímeros, formando biofilmes.

Assim, reduzem a resposta imune e interferem com os mecanismos de defesa do hospedeiro (TRABULSI; ALTERTHUM, 2006).

Durante as últimas três décadas o *S. epidermidis* e os outros *Staphylococcus* coagulase negativa têm emergido como causa importante de infecção hospitalar (CHOI et al., 2006). Além disso, são resistentes a múltiplos antibióticos, sendo que o *S. epidermidis* é o protótipo do grupo que serve como reservatório de genes resistentes, com potencial transferência para *S. aureus* (MAGERA; ELLIOTT, 2008).

A demanda por tratamento dessas infecções é crescente e as indústrias farmacêuticas têm desenvolvido uma imensa variedade de antibióticos. Porém, essa terapêutica é onerosa e traz inúmeros efeitos colaterais, sendo que uma das principais razões pela qual há falha no tratamento de infecções microbianas é o surgimento de resistência (BASTOS et al., 2011; MATIAS et al., 2010).

A resistência aos fármacos é um dos casos mais bem documentados de evolução biológica. Ou seja, é um fenômeno biológico, natural, que se seguiu à introdução de antimicrobianos na prática clínica, fortalecido pelo uso desmedido e irracional, que corroborou com o aumento da morbi-mortalidade dos pacientes com infecções, bem como aumentou os custos para as instituições de saúde. Por isso, a resistência se constitui um sério problema de saúde pública, justificando a preocupação na busca de recursos, a partir de espécies vegetais, que permitam o desenvolvimento de novas perspectivas para o tratamento de infecções e novos métodos de controles específicos (SÁNCHEZ, 2006; DUARTE, 2006).

Em 1997, foram relatadas várias plantas com atividade antimicrobiana, dentre elas estão a arnica (*Arnica montana*); a babosa (*Aloe vera*) com ações cicatrizante, antibacteriana, antifúngica, anti-inflamatória e antivirótica comprovadas, proporcionadas pela presença de antraquinonas como aloenina, barbaloina e isobarbaloina em sua composição química; o barbatimão (*Stryphnodendron barbatiman*); a camomila (*Matricaria chamomilla*); o confrei (*Symphytum officinale*); a erva-de-bicho (*Polygonum sp*); a malva (*Malva sylvestris*); a mil-folhas (*Achillea millefolium*); e a salvia (*Salvia officinalis*) (TIAGO, 1997).

Estudos realizados no período de 2004 e 2005 em diferentes países evidenciaram o uso de *Arctostaphylos uva-ursi* e *Vaccinium macrocarpon* para tratar infecções do trato urinário em diferentes manuais de fitoterapia, enquanto as espécies *Melissa officinalis*, *Allium sativum* e *Melaleuca alternifolia* foram descritas como agentes antimicrobianos de amplo espectro (HEINRICH et al., 2004).

Um total de 705 extratos orgânicos e aquosos de plantas da Floresta Amazônica e da Floresta Atlântica foram submetidas a testes contra *E. coli*, *P. aeruginosa* e *S. aureus*, sendo encontrados resultados promissores quanto à atividade antimicrobiana. Também, foi observado que a associação *in vitro* de antibacterianos e extratos de plantas demonstrou atividade sinérgica contra bactérias resistentes aos antibacterianos padrões (SUFFREDINI; DALY, 2001).

Há uma série de produtos farmacêuticos baseados em extratos vegetais que foram patenteados. Pode-se citar o trabalho desenvolvido com espécies do gênero *Coleonema*. A formulação pode ter uso tópico ou oral, como imunoestimulante, anti-HIV, anti-inflamatória, antibacteriana e útil contra *Mycobacterium tuberculosis* (GROENEWALD et al., 2005).

O Núcleo de Pesquisa e Inovação Tecnológica em Tratamento de Feridas é um grupo multidisciplinar de pesquisas em enfermagem pertencente à Universidade Federal de Alagoas que se propõe a aprimorar o cuidado de enfermagem na terapêutica de feridas e no controle de infecção, numa atuação multidisciplinar. Citam-se pesquisas experimentais *in vitro* desenvolvidas pelo grupo que evidenciaram a ação inibitória do óleo de coco contra *Staphylococcus aureus* (ALMEIDA et al., 2012); a ação antimicrobiana dos extratos de *Zeyheria tuberculosa* contra *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans*, justificando o uso popular dessa espécie (BASTOS et al.; 2009).

Além disso, o grupo fez a comprovação de que frações da espécie *Piper hayneanum* tem potencial para o desenvolvimento de um agente terapêutico contra infecções tópicas, em decorrência da eficácia na cicatrização de feridas infectadas por *Staphylococcus aureus* e *Candida albicans* em modelo de ratos (BASTOS et al., 2011).

2.4 Inflamação tópica

O processo inflamatório consiste em um mecanismo de defesa inato e caracteriza-se como uma resposta biológica complexa dos tecidos vascularizados frente a diferentes estímulos, auxiliando na eliminação de agentes estranhos, dando início ao processo de reparo tecidual. Os tecidos inflamados podem responder a estímulos nocivos, tais como patógenos, células lesionadas e injúrias químicas, térmicas ou mecânicas, por meio da produção de diferentes mediadores bioativos. Estes, por sua vez, interagem com diferentes tipos de células e moléculas para amplificar a reação flogística (KUMAR et al., 2005). Clinicamente, a resposta inflamatória apresenta-se por meio de quatro sinais clássicos: calor, eritema, dor e edema, que ocorre devido ao aumento da quantidade de líquido no meio extracelular (SILVA; MADUREIRA, 2010).

A cascata de eventos desencadeada após uma agressão ou estímulo tecidual resulta no aumento do calibre microvascular, aumento da permeabilidade vascular e recrutamento de leucócitos, provenientes de uma interação entre diferentes tipos de células que residem no tecido cutâneo, tais como: queratinócitos, fibroblastos, mastócitos, células endoteliais, macrófagos, bem como vários mediadores pró-inflamatórios (SHERWOOD; TOLIVER-KINSKY, 2004).

Os mediadores pró-inflamatórios liberados durante esse processo, tanto pelas células do tecido cutâneo quanto pelas células transientes (neutrófilos, linfócitos, monócitos), incluem os metabólitos do ácido araquidônico, histamina, serotonina, substância P, citocinas, óxido nítrico, espécies reativas de oxigênio, dentre outras (SIMMONS, 2006).

Na inflamação neurogênica na pele, visualiza-se o fenômeno de vasodilatação arteriolar oriundo das fibras nervosas locais, com aumento do fluxo sanguíneo e consequente formação de edema por extravasamento de plasma da vênula pós-capilar. Clinicamente, observa-se a formação de uma pápula com eritema. Essa reação ocorre pela presença local de neuropeptídeos liberados por duas subpopulações de fibras nervosas cutâneas, chamadas de fibras peptidérgicas: do tipo C, aferentes não mielinizados ou nociceptores polimodais C, em menor quantidade; e do tipo A-delta (pequenas fibras mielinizadas). Essas duas fibras associadas desempenham o papel autonômico e de nocicepção na pele (KALIL-GASPAR, 2003).

Uma classe de fármacos com vários exemplos desenvolvidos a partir de produtos naturais é a dos agentes anti-inflamatórios. Muitos metabólitos secundários provenientes de plantas são conhecidos por atuar direta ou indiretamente em moléculas ou interferir no mecanismo de ação de mediadores inflamatórios (metabólitos do ácido araquidônico, peptídeos, citocinas, aminoácidos excitatórios), na produção e na ação de segundos mensageiros (cGMP, cAMP, proteínas quinases, cálcio), na expressão de fatores de transcrição (AP-1, NF- κ B, proto-oncogênese – c-jun, c-fos e c-myc), na expressão de moléculas pró-inflamatórias (iNOS, cicloxigenase COX-2, IL-1 β , TNF- α , neuropeptídeos e proteases) (CALIXTO et al., 2003).

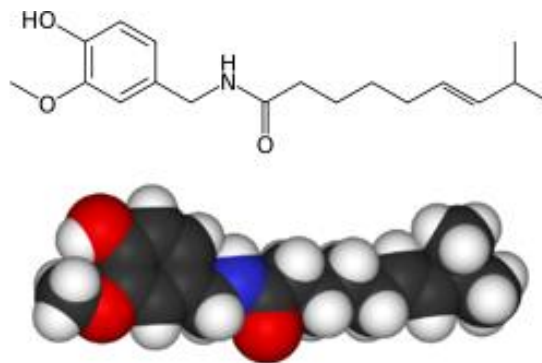
A utilização do edema, como parâmetro de avaliação em modelos validados, permite analisar o potencial anti-inflamatório de compostos sintéticos, extratos de plantas ou compostos isolados de plantas, tanto por via tópica, quanto por via sistêmica (DE YOUNG et al., 1989). Além disso, quando o objetivo é o desenvolvimento de medicamentos de uso tópico, esse modelo permite identificar os compostos que apresentam uma absorção cutânea

apropriada, de forma a atingir concentrações adequadas na pele para exercer um efeito farmacológico (BOUCLIER et al., 1990).

O edema de orelha, por exemplo, é um modelo de inflamação cutânea, com um procedimento simples. A inflamação pode ser induzida por vários agentes irritantes ou também chamados de agentes flogísticos, para os quais se destaca a necessidade de uma pequena quantidade da amostra e a rapidez na obtenção dos resultados (BOUCLIER et al., 1990).

Entre os agentes flogísticos utilizados, tem-se a capsaicina (*trans*-8-metil-*N*-vanilil-6-nonenamida), uma substância ativa responsável pelo efeito pungente e irritante das pimentas (páprica, pimenta vermelha e *Capsicum annuum* L.) e sua aplicação tópica produz reação inflamatória de origem neurogênica (JANCSÓ et al., 1981) (Figura 3).

Figura 3 - Estrutura química e molecular da Capsaicina (8-metil-*N*-vanílico-6-Nonenamida)



Fonte: <http://www.mdig.com.br/index.php?itemid=15684>

Quando aplicada topicamente, é capaz de ativar o receptor TRPV1 (receptor vaniloide tipo 1), induzindo resposta inflamatória neurogênica imediata, caracterizada por forte extravasamento plasmático e consequente formação de edema. Os estudos demonstram que o mecanismo pelo qual a capsaicina produz edema é diferente dos outros modelos de inflamação cutânea. Portanto, na pele, a capsaicina promove ativação de nervos sensoriais, liberando neuropeptídeos como o peptídeo relacionado ao gene da calcitonina (CGRP), substância P, neurocinina A e Peptídeo Vasoativo Intestinal (VIP), os quais induzem a formação de edema. Além disso, os neuropeptídeos apresentam papel importante na liberação de histamina e serotonina que são mediadores secundários no aumento da permeabilidade vascular (GABOR; RAZGA, 1992; SANCHEZ; MORENO, 1999; SHOLZEN et al., 2003).

O processo inflamatório denominado de inflamação neurogênica se desenvolve como resultado da ativação de nervos sensoriais que secretam neuropeptídeos em vários tecidos, incluindo a pele. Neuropeptídeos secretados na pele não são somente neurotransmissores da dor e do prurido, mas também apresentam um papel como mediadores inflamatórios e do sistema imune (ZEGARSKA, 2006).

A importância da ação da capsaicina no estudo de neuropeptídios na pele deve-se a sua capacidade de despolarizar fibras C e A-delta, ligando-se ao receptor vaniloide (TRPV1), que abre canais iônicos gerando um influxo de cálcio na fibra nervosa, e assim induz a resposta inflamatória neurogênica, por produzir a desgranulação de mastócito no tecido conectivo da pele, com consequente produção de vasodilatação reflexa, extravasamento de plasma, sensibilização nociceptiva e eritema, com isso o edema se estabelece em poucos minutos (HOLZER, 1991).

Cerca de 300 preparações a partir de plantas medicinais destinadas ao tratamento de doenças inflamatórias cutâneas tiveram sua eficácia comprovada e seu uso tradicional validado pela Comissão E (Corpo Científico Responsável pela Validação de Plantas Medicinais na Alemanha). Dessas, 40 são destinadas ao uso em dermatologia e 10 têm papel significativo na prática terapêutica, entre as quais estão incluídas a *Arnica montana*, *Calendula officinalis*, *Matricaria recutita*, *Echinacea* sp., *Sanguinaria canadenses*, *Hammamelis virginiana*, *Aveno sativa*, *Aloe Vera* e *Hypericum perforatum*. Essas plantas são popularmente utilizadas para o tratamento de inflamações tópicas, sendo que sua eficácia e segurança foram comprovadas por meio de estudos científicos pré-clínicos e clínicos (BEDI; SHENEFELT, 2002).

2.5 Compostos antirradicais com potencial antioxidante

A oxidação é um processo essencial no metabolismo dos organismos aeróbios no qual os radicais livres são produzidos naturalmente, em consequência desse processo, ou mesmo por alguma disfunção biológica. Nesses radicais, o elétron desemparelhado encontra-se ligado ao átomo de oxigênio ou nitrogênio, e por esse motivo estes radicais são classificados como espécies reativas do oxigênio (ERO) ou espécies reativas do nitrogênio (ERN) (BARREIROS et al., 2006).

Os radicais de oxigênio (radicais hidroxila e peroxila) e o ânion superóxido têm um papel essencial nas reações bioquímicas/fisiológicas, como: produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e síntese de substâncias biológicas

importantes. Entretanto, se houver produção excessiva de radicais de oxigênio durante os processos patofisiológicos ou mesmo devido a fatores ambientais adversos e não existirem antioxidantes disponíveis *in vivo*, podem ocorrer doenças e danos profundos em tecidos (HUANG et al., 2005; ALVES et al., 2010).

Essa produção em excesso pode causar diversos efeitos deletérios, como a peroxidação de lipídeos de membrana, agressão às proteínas dos tecidos e das membranas, às enzimas, carboidratos e DNA, causando danos às membranas, perda de sua fluidez, levando ao surgimento de câncer, como consequência de alterações no DNA, envelhecimento precoce, doenças crônicas inflamatórias, cardiovasculares, degenerativas e neurológicas, entre outras (ALVES et al., 2010).

Sendo assim, todos os organismos vivos estão expostos e sujeitos à ação oxidativa de espécies reativas de oxigênio (ERO), porém estudos têm demonstrado que as substâncias antioxidantes podem prevenir estes processos oxidativos (OLIVEIRA, 2011). Os antioxidantes podem agir retardando ou prevenindo a oxidação do substrato envolvido nos processos oxidativos impedindo a formação de radicais livres. Nesse contexto, o poder de neutralização das estruturas radicalares, que compostos fenólicos apresentam, é devido à sua estrutura química formada por pelo menos um anel aromático com grupamentos hidroxilas (GIADA; MANCINI-FILHO, 2006).

Pesquisas envolvendo compostos antioxidantes, oriundos de fontes naturais, têm sido desenvolvidas devido a sua importância na prevenção do desencadeamento de reações oxidativas (GIADA; MANCINI-FILHO, 2006). Os vegetais contêm diversas substâncias antioxidantes, cujas atividades têm sido bem comprovadas nos últimos anos.

Nas últimas décadas, tem-se destacado o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos farmacêuticos, a fim de substituir os antioxidantes sintéticos, que apresentam restrições devido ao seu potencial tóxico. Estudos têm demonstrado que polifenóis naturais possuem propriedades antioxidantes expressivas (OLIVEIRA, 2011).

Atualmente, existem diversos métodos *in vitro* para a avaliação da atividade antioxidante de extratos vegetais, em decorrência da variedade de compostos com propriedades antioxidantes, além da complexidade quanto ao seu modo de combater os radicais livres. Dentre os métodos descritos, os ensaios de captura de radicais livres de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) e ABTS [2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolino)6-ácido sulfônico] utilizam espécies radicalares estáveis e a detecção do ponto final se realiza geralmente por absorvância, sendo muito empregados na determinação da atividade antioxidante (LU; FOO, 2000).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Avaliar o potencial biológico da espécie vegetal *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore.

3.2 Objetivos específicos:

- Realizar a prospecção fitoquímica para a identificação da classe dos constituintes dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea*;
- Identificar a viabilidade celular de macrófagos peritoniais de camundongos frente aos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* pelo método colorimétrico do Metiltetrazólio (MTT);
- Determinar a concentração inibitória mínima dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* contra microrganismos patogênicos por meio do método de microdiluição em caldo;
- Determinar a atividade antiedematogênica dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea*;
- Determinar a atividade antirradicalar dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo e Locais dos experimentos

Trata-se de uma pesquisa básica, delineada nos moldes da pesquisa quantitativa e experimental. Os testes *in vitro* e *in vivo* foram realizados nos seguintes laboratórios pertencentes à Universidade Federal de Alagoas/UFAL: Laboratório de Pesquisa em Tratamento de Feridas da Escola de Enfermagem e Farmácia – LpTF/ESENFAR, coordenado pela Profa. Dra. M^a Lysete de Assis Bastos; Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais – Fitoquímica, coordenado pela Profa. Dra. Lúcia Maria Conserva do Instituto de Química e Biotecnologia – LPqPN – Fitoquímica/IQB; Laboratório de Farmacologia e Imunidade do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – LaFI/ICBS, coordenado pelas Profas. Dras. Eliane Aparecida Campesatto e Magna Suzana Alexandre-Moreira.

4.2 Aspectos éticos

O presente projeto de pesquisa foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Alagoas (CEUA/UFAL), por se tratar de um trabalho que envolve experimentos *in vivo*, sob o n^o. do processo 011/2014 (Anexo A). Os protocolos foram conduzidos respeitando-se os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

4.3 Coleta e identificação das amostras vegetais

Amostras vegetais de folhas e de flores de *Tabebuia aurea* foram coletadas no mês de outubro de 2012, na Reserva Ecológica do Castanho - Delmiro Gouveia/AL (~22 km da pista), região de Xingó (Coordenadas geográficas: S09°26'20,5" W037°53'54,7"). A identificação foi feita por uma botânica do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas (IMA/AL). A exsicata do referido material encontra-se depositada no Herbário do IMA/AL, com a identificação MAC n^o 56122.

4.4 Preparação dos Extratos

A secagem do material botânico da espécie vegetal avaliada foi realizada a sombra, com ar circulante durante 60 dias. Depois de dessecadas, as amostras vegetais foram trituradas e submetidas a um processo de maceração a frio com álcool etílico a 97% (C_2H_5OH). A filtração foi realizada a cada 72 h, até o esgotamento do processo de extração. A cada filtração, a solução com extrato foi concentrada em evaporador rotativo a 40 °C e mantido em estufa banho-maria, na mesma temperatura, para evaporação do solvente residual e obtenção do extrato bruto etanólico (Figura 4).

Figura 4 – Processo de preparação dos extratos etanólicos de *T.aurea* iniciando pela etapa de trituração, seguido pelo processo de maceração até a obtenção dos extratos etanólicos de flores e de folhas



Fonte: Autora, 2014

O solvente etanol (C_2H_5OH) apresenta uma baixa toxicidade, constituindo um fator determinante no processo de extração de compostos ativos com a finalidade de fabricação de fitomedicamentos. Além disso, possui um menor impacto ambiental e baixo custo, em relação

aos demais solventes (PEIXOTO SOBRINHO et al., 2010). Por esses motivos, foi o solvente eleito para a extração de folhas e de flores de *T. aurea*.

4.5 Ensaio biológicos:

4.5.1 Prospecção fitoquímica para a identificação de compostos bioativos

A prospecção fitoquímica para a identificação de classes de constituintes químicos presentes nos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* foi realizada segundo a metodologia descrita por Matos (1997), onde os métodos utilizados são qualitativos. Foi avaliada a presença das seguintes classes:

Alcalóides

Para identificar a presença de alcalóides uma alíquota de 5 mg dos extratos etanólicos de *T. aurea* foram dissolvidas em 1 mL de etanol a 80% e, em seguida, foram adicionados 4 mL de ácido clorídrico (HCl) a 5%. Quatro porções de 1 mL desta solução foram separadas em tubos de ensaio e foram adicionadas gotas do reagente de Dragendorff. A precipitação de coloração vermelho-tijolo indicou uma reação positiva.

Ácidos orgânicos

Uma alíquota de 5 mg dos extratos de *T. aurea* foi dissolvida em 3 mL de água destilada e foram adicionadas gotas de reativo de Páscova de coloração azul-violeta. A descoloração deste reativo pela reação com os extratos indicou uma reação positiva.

Antraquinonas e naftoquinonas

A presença de antraquinonas foi identificada a partir da dissolução de 5 mg dos extratos de *T. aurea* em água destilada e, logo após, em 3 mL de benzeno. Foram adicionados 2 mL de hidróxido de amônio (NH₄OH) a 10% e, em seguida, a solução foi agitada suavemente. A coloração rósea, vermelha ou violeta na fase aquosa, indicou uma reação positiva à presença de antraquinonas.

Esteroides e triterpenoides

Foi dissolvida em 3 mL de água de destilada uma alíquota de 5 mg dos extratos de *T. aurea*. Em seguida, redissolvida em 3 mL de clorofórmio. Adicionou-se 2 mL de anidrido

acético e, após agitação suave, foi adicionado 1 mL de ácido sulfúrico concentrado, formando duas fases imiscíveis, uma aquosa e outra clorofórmica. A presença de cores azuis evanescentes, seguida de verde persistente, na fase clorofórmica, indicou a presença desta classe de constituintes.

Saponinas

Uma alíquota de 5 mg dos extratos etanólicos de *T. aurea* foi dissolvida em 1 mL de etanol 80% e após, diluído em até 15 mL de água destilada. Em seguida, a solução foi agitada vigorosamente durante alguns minutos num tubo de ensaio fechado. A formação de uma camada de espuma, e sua permanência estável por mais de 30 minutos, representou resultado positivo para saponinas.

Taninos

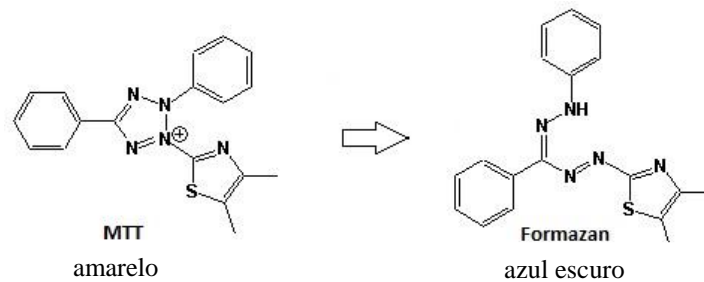
Os taninos presentes foram identificados a partir da dissolução de 5 mg dos extratos de *T. aurea* em 10 mL de água destilada. Em seguida, foi adicionado uma gota de solução de cloreto férrico (FeCl_3) 1%. A mudança de coloração ou formação de precipitado indicou a presença de taninos.

4.5.2 Ensaio de Viabilidade Celular

O estudo de viabilidade de macrófagos foi realizado utilizando o método colorimétrico Metiltetrazólio (MTT) e avaliou a viabilidade dos macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss*, de acordo com a metodologia descrita por Lima et al. (2006).

Esse teste é baseado na atividade das mitocôndrias celulares pela redução do MTT, por meio das enzimas desidrogenases presente nas mitocôndrias ativas, responsável pela clivagem do sal de tetrazólio (de coloração amarelada) que resulta na formação de cristais de formazan (de coloração azul escura) (Figura 5).

Figura 5 - Redução do sal de tetrazólio a cristais de formazan por meio das enzimas desidrogenases, presentes nas mitocondriais viáveis, ao final do ensaio de viabilidade celular



Fonte: <<http://www.famepharma.com/scientific-biocrush.htm>>

A quantidade de cristais formada é diretamente proporcional ao número de células viáveis. Dessa forma, quanto mais escura a coloração ao final da reação, maior é a viabilidade celular. A manipulação celular foi realizada dentro de uma cabine de segurança biológica com fluxo laminar, na qual uma linhagem celular do animal foi isolada, centrifugada e submetida aos extratos vegetais.

Nesse ensaio, os macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss* foram plaqueados (3×10^5 /por poço) e ficaram “*over night*” para melhor aderência das células à placa. No dia seguinte, foram expostos a diferentes concentrações dos extratos (1; 0,5; 0,2 e $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$) por um período de 48 h. Os poços controles continham células cultivadas somente com meio de cultura e células cultivadas na presença do solvente dimetilsulfóxido (DMSO). Para o controle de lise celular, foi utilizado o triton X, potente agente citotóxico.

Após o período de incubação, o sobrenadante foi descartado e em seguida foi adicionado $100 \mu\text{L}$ da solução de MTT (10% em meio Meio Dulbecco Modificado por Eagle-DMEM) em cada poço. As placas foram então reincubadas durante 4 horas em estufa a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e a 5% de CO_2 . Para a quantificação do sal de formazan (coloração azul escuro) reduzido, as placas foram lidas com o auxílio de um leitor de microplacas no comprimento de onda 530 nm .

Essa técnica tem a capacidade de analisar a viabilidade celular e o estado metabólico da célula a partir da redução do sal de tetrazólio à formazan, sendo bastante útil para avaliar citotoxicidade. Os resultados deste teste de viabilidade celular foram analisados pelo programa *Graphpad Prism 5.0*[®] e os dados expressos em tabela como percentual de morte celular, considerando como controle 100% a contagem de células viáveis em culturas não estimuladas. Os valores foram considerados significativos quando $*p < 0,05$. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

4.5.3 Microdiluição em caldo

4.5.3.1 Microrganismos utilizados

Para a avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas linhagens de microrganismos padronizadas pela *American Type Cell Collection* – ATCC/Manassas - VA/USA.

Foram avaliadas bactérias Gram-positivas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 31488) e *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); Gram-negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Enterobacter aerogenes* (ATCC), *Shigella flexneri* (ATCC), *Salmonella enterica* (ATCC 1307), *Acinetobacter calcoaceticus* (ATCC 23055); e o fungo *Candida albicans* (ATCC 24433).

4.5.3.2 Preparação do inóculo

As linhagens bacterianas e fúngica liofilizadas foram cultivadas no caldo de cultivo *Brain Heart Infusion* (BHI), que promove a ativação e a propagação dos microrganismos. Para cada linhagem, 2,5 mL deste meio de cultura foram distribuídos em tubos de ensaios (15 x 100 mm), e com ajuda de uma pinça estéril, o microrganismo em sua forma inativa foi introduzido. Em seguida, os tubos de ensaio foram levados a uma estufa bacteriológica por 24 h a 35 °C, no caso das bactérias, e por 48 h a 28 °C, no caso dos fungos.

Após esse período, com o auxílio de uma alça de platina, os microrganismos foram semeados em placas de Petri com meio de cultivo *Ágar Mueller-Hinton* (AMH), para propagação de bactérias, e *Agar Sabouraud Dextrose* (ASD) para o fungo. As placas foram reincubadas nas mesmas condições (CLSI, 2008; 2012a).

Para a padronização da densidade do inóculo, foi utilizado o controle de turbidez óptica de bário (BaSO₄), correspondente a uma solução da escala padrão de turvação de Mc Farland do tubo 0,5, que resulta em uma suspensão contendo aproximadamente 1,5 x 10⁸ UFC/mL (Unidades Formadoras de Colônias por mililitro) de bactérias e 1-5 x 10⁶ UFC/mL de leveduras (CLSI, 2008; 2012a).

4.5.3.3 Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)

A atividade antibacteriana dos extratos etanólicos de *Tabebuia aurea* foi determinada por meio da concentração inibitória mínima (CIM) realizada conforme descrito pelo protocolo do *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2012a). As amostras foram dissolvidas em Cromophora 2%, obtendo uma concentração estoque de 20 mg mL^{-1} (0,4 g da amostra/400 μL de Cremophor + 19,6 mL de Soro Fisiológico a 0,9%).

Os inóculos foram preparados em solução salina tamponada estéril e a suspensão bacteriana foi determinada pela turvação do tubo 0,5 da escala de Mc Farland ($1,5 \times 10^8$ UFC/mL), diluída numa proporção de 1:10 para se conseguir uma diluição 10^7 UFC/mL, sendo a concentração final de bactérias entre 5×10^5 UFC/mL e 5×10^4 UFC/poço, ao inocular 5 μL dessa suspensão no caldo. A suspensão fúngica, também determinada pela turvação do tubo 0,5 da escala de Mc Farland ($1-5 \times 10^6$ UFC/mL) foi diluída 1:50 para se conseguir uma diluição 2×10^4 UFC/mL, sendo a concentração final desejada de 0,5 a $2,5 \times 10^3$ UFC/mL, ao inocular 50 μL dessa suspensão em cada poço (CLSI, 2012b).

O ensaio para determinar a CIM foi realizado em microplacas de poliestireno estéreis de 96 poços, com 12 colunas (1 a 12) e 8 linhas (A a H). Todos os orifícios a partir da linha A foram preenchidos com 100 μL de caldo de cultivo *Miüller-Hinton* (MH). Um volume de 100 μL da solução estoque, na concentração de 20 mg mL^{-1} , das diversas amostras vegetais foi inoculado, em triplicata, nas colunas de 1 a 9 da linha A, alcançando uma concentração final nesse poço de 10 mg mL^{-1} .

Em seguida, uma alíquota de 100 μL do conteúdo de cada orifício da linha A foi transferido para os orifícios da linha B, e após homogeneização o mesmo volume foi transferido para a linha C, repetindo-se este procedimento até a linha H. Obtendo-se as concentrações decrescentes em mg mL^{-1} de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,62; 0,31; 0,15 e 0,07.

Posteriormente, em cada orifício foram adicionados 5 μL de inóculo microbiano. Os orifícios das colunas 10, 11 e 12 foram destinados para os testes de controle do experimento. Para o controle positivo da viabilidade bacteriana, utilizou-se o caldo de cultivo MH e o inóculo microbiano (5 μL); o controle negativo foi avaliado por meio da atividade inibitória do diluente Cremophor a 2%; e para o controle de esterilidade, utilizou-se apenas o caldo de cultivo MH, respectivamente.

As placas foram incubadas em estufa bacteriológica a $35 \text{ }^\circ\text{C}$ por 18 h para as bactérias e por $28 \text{ }^\circ\text{C}$ por 36 h para o fungo. Após este período, foram adicionados 20 μL de Cloreto de Trifenil Tetrazólio (TTC) a 5% (v/v) em cada poço, corante que promove a coloração das

colônias sem comprometer sua viabilidade, e as placas foram reincubadas por mais 3 h. A mudança de incolor para coloração vermelha significou a presença de microrganismos e a ausência da coloração vermelha significou prova positiva da ação inibitória do extrato sobre os microrganismos testados (AYRES et al., 2008; CLSI, 2012a).

O grau de atividade foi determinado segundo os seguintes critérios: $CIM \leq 0,1 \text{ mg mL}^{-1}$ (ativa); $0,1 < CMI \leq 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ (moderadamente ativa); $0,5 < CMI \leq 1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ (baixa atividade); e $CIM > 1,0 \text{ mg mL}^{-1}$ (inativos) (AYRES et al., 2008). A validade deste teste é verificada na constatação do crescimento microbiano no controle positivo e a CIM foi considerada como a menor concentração do extrato em mg mL^{-1} capaz de inibir completamente o crescimento microbiano (CLSI, 2012a).

4.5.3.4 Concentração bactericida

A concentração bactericida (CB) foi realizada, em triplicata, a partir da determinação da CIM. Uma alíquota da CIM e da concentração anterior e posterior a ela foram plaqueadas em meio AMH ou ADS, desprovido de qualquer microrganismo. Após 24 h de incubação a 35 °C, para as bactérias, e a 28 °C após 48 h, para os fungos, as leituras foram realizadas.

Para interpretação dos resultados considerou-se com ação bacteriostática o extrato que inibiu o crescimento do microrganismo no ensaio de CIM e que houve crescimento do microrganismo na subcultura. Aquele extrato que inibiu o crescimento no ensaio da CIM e também na subcultura indicou uma ação bactericida (ROCHA et al., 2013; MARTINS, 2009; SANTURIO et al. 2007; SARTORI, 2005).

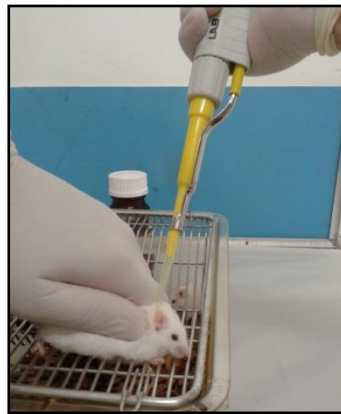
4.5.4 Avaliação da atividade antiedematogênica

O ensaio mais utilizado para estudar o processo inflamatório cutâneo é a indução de edema na orelha em camundongos. Este edema foi gerado por ação flogística da capsaicina com o objetivo de avaliar a atividade antiedematogênica.

O edema de orelha foi induzido por capsaicina em 24 camundongos da linhagem *Swiss* (entre 20 – 30 g) machos ou fêmeas, adultos, com 6 a 8 semanas de idade. Foram pesados 10 mg dos extratos etanólicos de flores e de folhas e solubilizados em 30 μL de Tween 80, 300 μL de etanol e 670 μL de acetona, ficando em uma concentração de 0,1%, administrados topicamente 40 minutos antes do estímulo flogístico (RAUH, 2008).

O estímulo flogístico foi induzido pela administração local na orelha direita de 20 μL de uma solução de capsaicina diluída em acetona ($12,5 \text{ mg mL}^{-1}$). Na orelha esquerda foi aplicado somente o veículo (20 μL) utilizado para dissolução. O ensaio caracteriza-se por uma resposta inflamatória aguda da orelha, com desenvolvimento de edema (Figura 6).

Figura 6 – Aplicação tópica de capsaicina, agente flogístico utilizado para indução da reação inflamatória de origem neurogênica, na orelha direita do camundongo para a formação do edema



Fonte: Autora, 2014

Os animais foram sacrificados 30 minutos após o estímulo com a solução de capsaicina diluída em acetona, posteriormente, suas orelhas foram cortadas e pesadas numa balança analítica para obtenção do índice de inflamação. Para minimizar variações devido à técnica, os ensaios foram realizados por um único experimentador (MANTIONE et al. 1990). A porcentagem de inibição do edema foi determinada pela fórmula:

$$\% \text{ inflamação} = \frac{\text{Peso da orelha } D_{(\text{Tratada})} - \text{Peso da orelha } E_{(\text{controle})}}{\text{Peso da orelha } E_{(\text{Controle})}} \times 100$$

Os grupos foram subdivididos em: Grupo experimental 1: seis camundongos para avaliação do extrato etanólico de flores na concentração de 0,1%, previamente solubilizados, conforme descrito acima; Grupo experimental 2: seis camundongos para avaliação do extrato etanólico de folhas na concentração de 0,1%, previamente solubilizados; Grupo controle positivo: seis camundongos para avaliação da aplicação tópica de dexametasona (10 mg mL^{-1}), agente anti-inflamatório, na orelha direita e; Grupo controle negativo: seis camundongos para avaliação da ação da capsaicina na orelha direita.

Os resultados deste teste foram analisados pelo programa *Graphpad Prism 5.0*[®] e os dados expressos em gráfico com porcentual de inibição de edema, considerando o veículo como grupo controle. Os valores foram considerados significativos quando $*p < 0,05$. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média.

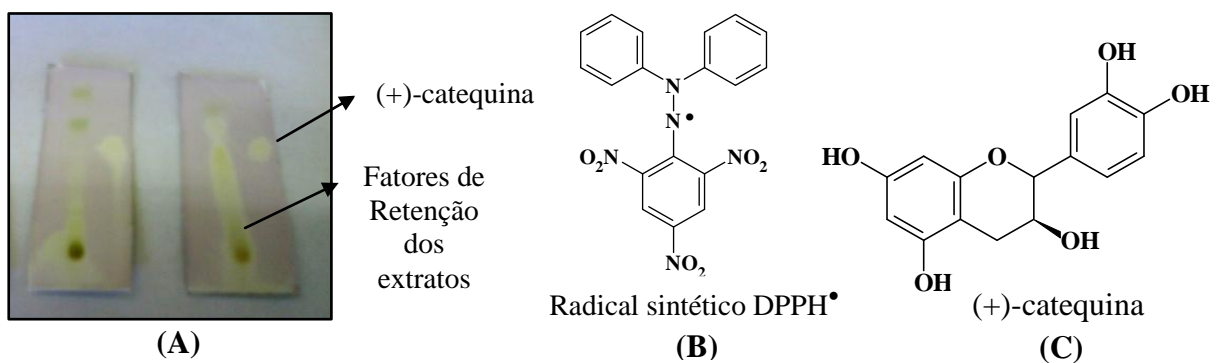
4.5.5 Avaliação da atividade antirradicalar

4.5.5.1 Ensaio qualitativos

Estes ensaios foram realizados, de acordo com a metodologia descrita por Soler-Rivas et al. (2000). Após dissolução em diclorometano (CH_2Cl_2), clorofórmio (CHCl_3) ou metanol (MeOH) dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea*, alíquotas (2 μL) de cada amostra foram aplicadas com auxílio de capilares de vidro em cromatoplaças 5 x 20 (sílica gel 60 F₂₅₄, Merck) e eluídas em sistemas de solventes adequados.

Após eliminação dos solventes a temperatura ambiente, foi aplicado o controle positivo (+)-catequina (2 μL , 1 mg mL^{-1} em clorofórmio) do lado direito da placa a uma altura equivalente à metade da mesma. Em seguida, as cromatoplaças foram imersas, durante 10 segundos, em solução metanólica do radical sintético 2,2-difenil-1-picrilidazila (DPPH[•]) (Sigma, St. Louis, MO, EUA) a 0,4 mM, e, em seguida, secas a temperatura ambiente. O surgimento de manchas amareladas sob um fundo roxo nos fatores de Retenção (Rfs) dos extratos avaliados sugeriu uma possível capacidade sequestradora de radicais livres (Figura 7).

Figura 7 - (A) Cromatoplaças após imersão em solução metanólica do radical sintético DPPH[•] (B) Estrutura química do radical sintético DPPH[•] (C) Estrutura química da (+)-catequina



Fonte: Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais (LPQPN/IQB/ UFAL), 2014

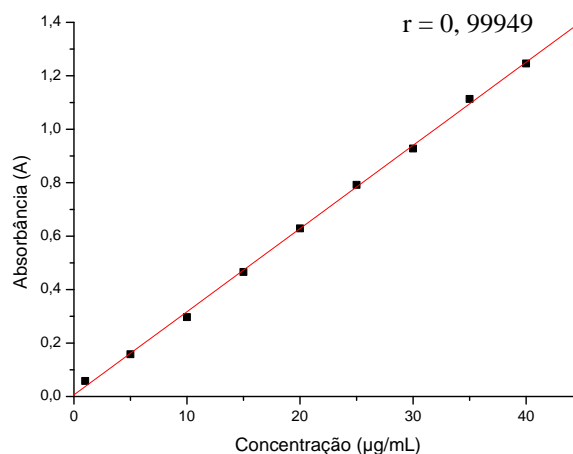
Legenda: Fatores de retenção dos extratos: mancha amarelada sob um fundo roxo, sugerindo possível capacidade sequestradora de radicais livres; (+)-catequina: controle positivo padrão.

4.5.5.2 Obtenção da curva de calibração

Para realização desse teste foi determinada a curva de calibração do radical DPPH[•] (Sigma, St. Louis, MO, EUA). Inicialmente, preparou-se 50 mL de uma solução estoque de DPPH[•] em metanol (MeOH) grau espectroscópico - HPLC ($40 \mu\text{g mL}^{-1} \sim 100 \mu\text{Mol L}^{-1}$). A partir desta solução, foram feitas diluições seriadas de 40, 35, 30, 25, 20, 15, 10, 5 e $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ para a curva de calibração e submetidas à análise em espectrofotômetro UV/VIS, modelos (SP-220 da Biospectro e UV mini-1240 Shimadzu) a 515 nm. As medidas foram feitas em triplicata, utilizando-se cubetas de poliestireno com percurso óptico de 1 cm, contendo 1 mL de cada solução. Como controle positivo (branco) utilizou-se MeOH grau HPLC.

A curva calibrada foi construída a partir dos valores médios de absorvância de cada solução do DPPH versus as concentrações usadas (1 a $40 \mu\text{g mL}^{-1}$) por meio da análise de regressão linear utilizando o programa *Microcal OriginPro 8.0* (Gráfico 1). Esta análise forneceu a equação matemática da curva de calibração: $Y = A + B \cdot x$, no qual: A = coeficiente linear; B = coeficiente angular ou inclinação da reta; x = concentração de DPPH[•] aos 60 minutos; com seu desvio padrão e coeficiente de correlação linear (r).

Gráfico 1 - Curva de calibração construída a partir dos valores médios de absorvância de cada solução do radical livre sintético DPPH[•] versus concentrações utilizadas (1 a $40 \mu\text{g mL}^{-1}$) por meio da análise de regressão linear no programa *Microcal OriginPro 8.0*®



Fonte: Autora, 2014

Legenda: r - Coeficiente de correlação linear; Concentração em $\mu\text{g mL}^{-1}$ do radical livre DPPH[•]

4.5.5.3 Ensaio quantitativos

Os extratos etanólicos de flores e de folhas que forneceram resultados positivos nos testes qualitativos foram solubilizados em MeOH grau HPLC obtendo-se concentrações de 12,5 a 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ (12,5; 25; 50; 100; 150 e 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Alíquotas de 0,1 mL de cada uma dessas concentrações foram diluídas em 0,9 mL de solução metanólica do radical DPPH (100 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Da mesma maneira as soluções estoques dos controles positivos padrões, ácido ascórbico e BHT (2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol), foram preparadas.

As soluções foram protegidas da presença de luz, homogeneizadas e as leituras de, no mínimo cinco diferentes concentrações, foram realizadas. A leitura da absorbância de cada uma das seis concentrações, em triplicata, contra a solução de MeOH grau HPLC (branco) foi realizada em um intervalo de 0, 15, 30, 45 e 60 minutos em espectrofotômetro a 515 nm.

A partir da equação matemática $Y = A + B \cdot x$ e dos valores de absorbâncias obtidos pela média no tempo de 60 minutos, juntamente com os coeficientes angulares e lineares da reta da curva de calibração, foi possível determinar a percentagem de DPPH \bullet que permanece no meio após reação com as amostras, ou seja, a percentagem de DPPH \bullet remanescente (% DPPH \bullet_{REM}), conforme fórmula descrita por Sánchez-Moreno et al. (1998):

$$\% \text{ DPPH}_{\text{REM}}^{\bullet} = \frac{[\text{DPPH}]_{T=t}}{[\text{DPPH}^{\bullet}]_{T=0}} \times 100$$

Em que:

%DPPH \bullet_{REM} = percentagem da concentração de DPPH \bullet_{REM} , ou seja, o que restou;

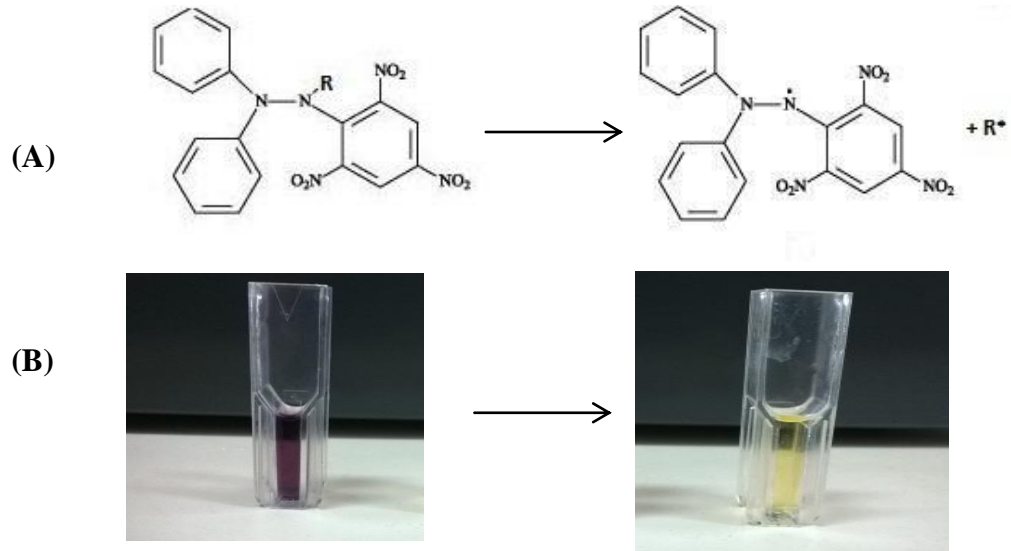
[DPPH \bullet] $_{T=t}$ = concentração de DPPH \bullet aos 60 minutos (t_{60}); e

[(DPPH \bullet)] $_{T=0}$ = concentração de DPPH \bullet inicial no meio (40 mg L^{-1} ou 100 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

A curva das amostras foi construída relacionando a %DPPH \bullet_{REM} às concentrações avaliadas de cada extrato nas concentrações de 12,5 a 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$, por meio da análise de regressão linear utilizando o programa *Microcal OriginPro 8.0*[®].

A quantidade de anti-radical necessária para reduzir a concentração inicial de DPPH \bullet em 50% (CI_{50}) foi obtida usando o modelo matemático $Y = A + B \cdot x$, na concentração de DPPH \bullet aos 60 minutos. Quanto maior o consumo de DPPH \bullet por uma amostra, menor será sua CI_{50} e maior a sua capacidade de sequestrar radicais livres (Figura 8). Os extratos que apresentaram valores de $\text{CI}_{50} \leq 200 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram considerados promissores.

Figura 8 - (A) Representação química da reação de redução do radical sintético DPPH[•] (B) Solução do radical sintético DPPH[•] de coloração roxa, à esquerda, antes das reações, e à direita, de coloração amarelada, após as reações de redução



Fonte: Laboratório de Pesquisa em Química dos Produtos Naturais (LPQPN/IQB/UFAL), 2014

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Prospecção fitoquímica para a identificação de compostos bioativos

Os resultados da prospecção fitoquímica evidenciaram a presença de diferentes classes de constituintes químicos, nos dois extratos de *T. aurea*, demonstrando a existência de ácidos orgânicos, antraquinonas e naftoquinonas em ambos os extratos. Entretanto, as saponinas só foram identificadas no extrato etanólico de flores (Tabela 1).

Tabela 1 - Prospecção fitoquímica dos extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea*

| Extratos etanólicos - <i>T.aurea</i> | Extrato etanólico de flores | Extrato de etanólico folha |
|---|------------------------------------|-----------------------------------|
| Constituintes químicos | | |
| Alcalóides | - | - |
| Ácidos orgânicos | + | + |
| Esteróides e terpenóides | - | - |
| Antraquinonas | + | + |
| Naftoquinonas | + | + |
| Saponinas | + | - |
| Taninos | - | - |

Fonte: Autora, 2014

Legenda: (-)Ausente; (+)Presente.

As espécies de Bignoniaceae, pertencentes ao gênero *Tabebuia*, conhecidas popularmente como “ipês”, apresentam uma grande diversidade de constituintes químicos, destacando-se as naftoquinonas e seus derivados, além de iridóides e antraquinonas (GARCEZ et al., 2007). Os achados desta pesquisa corroboram com a literatura, uma vez que foi verificada a presença de antraquinonas e naftoquinonas nos extratos de *T. aurea*.

Em uma análise fitoquímica de extratos etanólicos e aquosos de *T. aurea*, realizada por Araújo et al. (2013), também foram identificadas as seguintes classes de compostos: alcaloides, taninos pirogálicos (hidrolizáveis), taninos flobabênicos (condensados), xantonas, saponinas, esteroides, triterpenoides, flavanonas, flavonóis, flavononas e flavononois.

Outra abordagem fitoquímica dos extratos aquosos e etanólicos de folhas de *T. aurea* revelou como principais constituintes: esteroides, saponinas, triterpenoides, taninos, xantonas, flavanonas, flavonois, flavononas, flavononois e catequinas (COSTA et al., 2014). Desses compostos, apenas as saponinas estavam presentes nos extratos etanólicos de *T. aurea* avaliados na presente pesquisa. Entretanto, também foram identificados a presença de ácidos orgânicos e

naftoquinonas, com ação antimicrobiana comprovada nos estudos de Barbosa-Filho et al. (2004), e antraquinonas.

5.2 Viabilidade celular

O teste de viabilidade celular foi realizado por meio do Método Colorimétrico de MetilTetrazólio (MTT). Esse ensaio foi descrito pela primeira vez por Mosmann (1983) e representa um método colorimétrico rápido estabelecido para determinar o número de células viáveis em proliferação. Os estudos de citotoxicidade são baseados no teste de atividade enzimática mitocondrial das células pela redução do MTT.

O extrato etanólico de folhas não demonstrou citotoxicidade, uma vez que a CL_{50} foi superior a concentração máxima utilizada ($1,0 \text{ mg mL}^{-1}$). O extrato etanólico de flores não evidenciou citotoxicidade nas concentrações $\leq 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentração Letal de 50 % (CL_{50}) e citotoxicidade máxima dos extratos etanólicos de flores e folhas de *Tabebuia aurea* frente aos macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss*

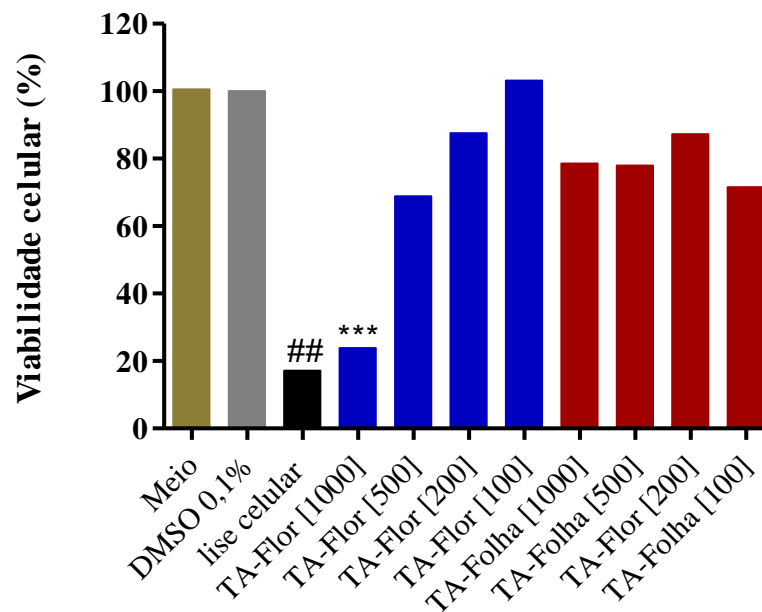
| Parte da Planta | CL_{50} (mg mL^{-1}) ^a | Citotoxicidade máxima (%) ^b |
|----------------------------|--|--|
| Extrato etanólico de flor | $0,565 \pm 0,055$ | $73,8 \pm 3,5$ |
| Extrato etanólico de folha | $> 1,000$ | NT |
| Meio | $> 1,000$ | NT |
| DMSO | $> 1,000$ | NT |

Fonte: Autora, 2014

Legenda: ^aConcentração Letal de 50 % (CL_{50}) calculada através de curvas concentração-resposta tóxica. ^bMédia \pm erro padrão da média (e.p.m) da citotoxicidade máxima em triplicata. Os valores de efeito máximo foram considerados significativos quando $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ em relação ao grupo DMSO 0,1%; NT: substância não que apresentou atividade letal significante para célula até a concentração de 1 mg mL^{-1} em relação ao grupo DMSO.

Sendo assim, conforme o Gráfico 2, não houve citotoxicidade estatisticamente significativa na avaliação do extrato etanólico de folhas, em todas as concentrações avaliadas ($1,0; 0,5; 0,2; 0,1 \text{ mg mL}^{-1}$), com a viabilidade celular variando de 87,27% a 71,60 %, quando comparada ao DMSO 0,1%. O extrato etanólico de flores não demonstrou citotoxicidade nas concentrações de $0,5$ a $0,1 \text{ mg mL}^{-1}$, com viabilidade celular variando de 68,83% a 100%. Entretanto, na concentração de $1,0 \text{ mg mL}^{-1}$, o extrato etanólico de flores apresentou citotoxicidade elevada, semelhante à provocada pelo controle de lise celular (triton X), a qual apresentou 17,19% de viabilidade celular, representando assim moderada citotoxicidade nas concentrações $> 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$.

Gráfico 2 - Viabilidade celular dos macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss* frente aos extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea* nas concentrações 1,0; 0,5; 0,2 e 0,1 mg mL⁻¹



Fonte: Autora, 2014

Legenda: Meio - DMEM; DMSO 0,1% - diluente das amostras na concentração de 0,1%; TA-Flor - Extrato etanólico de flores; TA-Folha - Extrato etanólico de folhas. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m., respectivamente, em triplicata. Os valores de efeito máximo foram considerados significativos quando $**p < 0,01$, $***p < 0,001$ em relação ao grupo DMSO 0,1%, usando ANOVA, seguido do teste de Dunnett. ##relacionado à lise.

Os ensaios de citotoxicidade, prioritariamente, fornecem informações sobre diferentes funções ou compartimentos celulares (AZEVEDO, 2005), tais como a perda seletiva da permeabilidade celular, a redução da função mitocondrial e as mudanças na morfologia e replicação celular. Entretanto, a perda da função mitocondrial é uma das respostas mais comuns e pode ser utilizada como sinal precoce de citotoxicidade (MELO et al., 2000).

Os extratos de *Tabebuia impetiginosa* (extrato hexânico de folhas e etanólico de galhos) foram citotóxicos. Porém, as amostras etanólicas de folhas e de cascas do caule não induziram citotoxicidade em macrófagos peritoneais de camundongos da linhagem *Swiss* nas concentrações ≤ 1 mg mL⁻¹ pelo ensaio de MTT, o que sugeriu a continuação de estudos *in vivo* (VASCONCELOS et al., 2014).

As espécies *T. serratifolia* e *T. stenocalyx* não foram citotóxicas em concentrações inferiores a 0,5 mg mL⁻¹ (BRANDÃO et al., 2010). Embora tenha sido observado efeito tóxico em células eucarióticas, os compostos oriundos de *T. avellanadae* mostraram-se atóxicos quando aplicados tópicamente em coelhos saudáveis (PEREIRA et al., 2006).

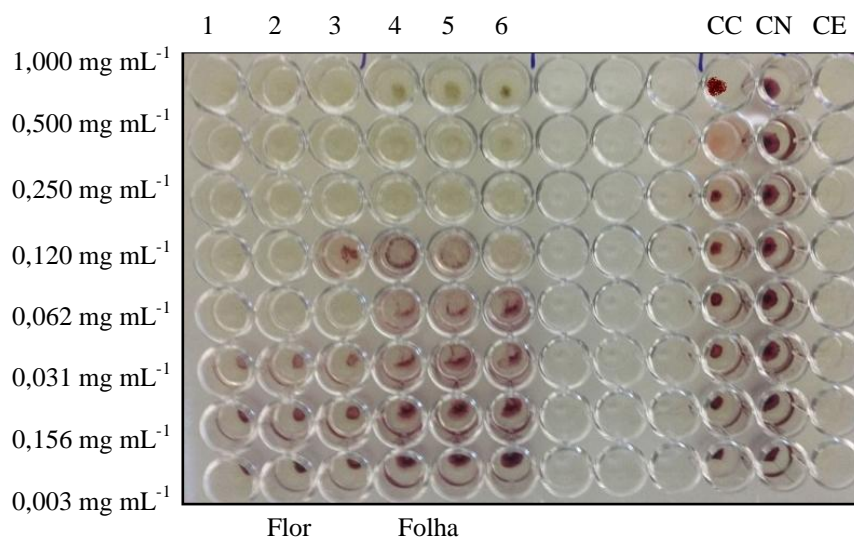
A espécie *Tabebuia serratifolia*, por sua vez, foi considerada citotóxica, na avaliação de González-Coloma et al. (2012), utilizando o mesmo ensaio de MTT. As substâncias β -lapachona e lapachol extraídos do caule de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) também mostraram elevado potencial citotóxico (ALMEIDA et al., 2009).

Os extratos de *T. aurea* não evidenciaram citotoxicidade significativa, exceto o extrato etanólico de flores, o qual o mais sensato é utilizá-lo nas concentrações $\leq 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$, visto que se comportou de forma equitativa não induzindo citotoxicidade celular. Estes resultados representam indícios de segurança na utilização terapêutica da espécie vegetal em testes pré-clínicos *in vivo*.

5.3 Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea* apresentaram os melhores resultados frente às bactérias Gram-positivas. O extrato etanólico de flores mostrou-se ativo frente à linhagem de *S. epidermidis*, com uma CIM de $0,06 \text{ mg mL}^{-1}$ (Figura 9). Já o extrato etanólico de folhas foi considerado moderadamente ativo frente a esta mesma linhagem, com uma CIM de $0,25 \text{ mg mL}^{-1}$, e frente à linhagem de *S. aureus*, com uma CIM de $0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ (Tabela 3). Os extratos de *Tabebuia aurea* não evidenciaram ação contra ao fungo *C. albicans*.

Figura 9 - Teste de microdiluição em caldo evidenciando a concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos de flores ($0,062 \text{ mg mL}^{-1}$) e de folhas ($0,25 \text{ mg mL}^{-1}$) de *Tabebuia aurea* frente à linhagem bacteriana de *Staphylococcus epidermidis*



Fonte: Autora, 2014

Legenda: Triplicata 1, 2 e 3 - extrato etanólico de flores de *T. aurea*; Triplicata 4, 5 e 6 - extrato etanólico de folhas de *T. aurea*; CN - controle negativo; CC - controle de crescimento; CE - controle de esterilidade da placa.

Tabela 3 - Concentração inibitória mínima (CIM) dos extratos etanólicos de flores e folhas de *Tabebuia aurea* frente aos microrganismos avaliados

| Concentração inibitória mínima – CIM (mg mL⁻¹) | | |
|--|----------------------------------|-----------------------------------|
| Microrganismo | Extrato etanólico de flor | Extrato etanólico de Folha |
| Gram-Positivas | | |
| <i>S. aureus</i> | >10,00 | 0,50 |
| <i>S. epidermidis</i> | 0,06* | 0,12 |
| <i>E. faecalis</i> | > 10,00 | 10,00 |
| Gram-Negativas | | |
| <i>E. coli</i> | 10,00* | 10,00* |
| <i>K. pneumoniae</i> | 10,00* | 10,00* |
| <i>A. calcoaceticus</i> | >10,00 | 10,00* |
| <i>E. aerogenes</i> | >10,00 | 10,00 |
| <i>S. flexneri</i> | 10,00 | 1,00 |
| <i>S. enterica</i> | 10,00 | 10,00 |

Fonte: Autora, 2014

Legenda: * concentrações bactericidas.

5.3.1 Concentração Bactericida

A CIM de 0,062 mg mL⁻¹ do extrato etanólico de flores apresentou ação bactericida frente às linhagens de *S. epidermidis* e, na CIM de 10 mg mL⁻¹, frente às linhagens de *E. coli* e *K. pneumoniae*. O extrato etanólico de folhas apresentou ação bactericida frente às linhagens de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *A. calcoaceticus*, também na CIM de 10 mg mL⁻¹ (Tabela 3). As demais linhagens, que evidenciaram sensibilidade frente aos extratos avaliados, apresentaram ação bacteriostática.

Esta pesquisa revelou o potencial antibacteriano de *T. aurea*, principalmente, frente às espécies de bactérias Gram-positivas. Quanto à ação sobre as bactérias Gram-negativas, os extratos etanólicos de *T. aurea* necessitaram de CIM mais elevadas para sensibilizar os microrganismos.

A ausência ou redução da ação bactericida de amostras vegetais frente a bactérias Gram-negativas tem sido observada por outros pesquisadores e pode estar associadas às peculiaridades da composição dos extratos agindo sobre a composição celular dos microrganismos (CARELLI et al., 2011).

Algumas pesquisas também relatam esta ação reduzida sobre os microrganismos Gram-negativos demonstrando que outras espécies do gênero *Tabebuia*, como: *T. ochracea* e *T. rosea*, não apresentaram nenhuma ação contra as cepas de *Escherichia coli* e *Pseudomonas*

aeruginosa (FRANCO et al., 2013). Entretanto, um estudo experimental verificou que o extrato etanólico de folhas *Tabebuia impetiginosa* promoveu uma atividade antimicrobiana fraca contra as cepas Gram-positivas de *S. epidermidis* (CIM \geq 0,62 mg mL⁻¹) e de *S. aureus* (CIM \geq 0,31 mg mL⁻¹) (VASCONCELOS et al., 2014).

Esta ação antimicrobiana reduzida ou mesmo ausente pode ser justificada, uma vez que foram avaliados extratos brutos e a presença de seus fitocomponentes, primários e secundários, podem interferir na concentração da substância ativa contra esses microrganismos (BENFATTI et al., 2010).

O ipê-roxo (*T. avellanedae*), por exemplo, não apresentou atividade antimicrobiana *in vitro* (SUO, 2013). Entretanto, seus compostos isolados demonstraram promissora atividade antibacteriana frente às linhagens de *Staphylococcus* resistentes à meticilina, mas não foi observada atividade bactericida (Concentração mínima bactericida - CBM $>$ 0,51 mg mL⁻¹) (PEREIRA et al., 2006).

Uma série de naftoquinonas e antraquinonas, derivados do ácido benzóico e glicosídeos foram isolados de *Tabebuia avellanedae* na forma de metabolitos secundários. O composto nafto[2,3-b]furano-4,9-diona oriundo desta espécie demonstrou potente atividade antimicrobiana contra várias bactérias Gram-positivas e fungos (YAMASHITA et al., 2009).

O extrato hexânico da madeira de caules de *Tabebuia caraiba* apresentou importante atividade sobre *E. faecalis* (CIM: 0,031 mg mL⁻¹) e *S. aureus* (CIM: 0,5 mg mL⁻¹). A fração metanólica desse extrato, submetida ao fracionamento químico, resultou em compostos com amplo espectro de ação sobre bactérias Gram-negativas: *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter koseri*; e Gram-positiva: *Staphylococcus epidermidis* (ALBERNAZ, 2006).

Ressalta-se então que os testes realizados com extratos brutos tendem a evidenciar resultados de CIM mais elevadas e, certamente, seus compostos isolados devem apresentar uma atividade antimicrobiana maior (BENFATTI et al., 2010).

A baixa ou mesmo ausente atividade inibitória encontrada também pode estar relacionada com as diferenças estruturais que as bactérias Gram-negativas apresentam em relação às Gram-positivas. Este é um dos fatores que podem dificultar a ação dos componentes bioativos dos produtos vegetais investigados. Além disso, às substâncias potencialmente ativas podem estar presentes em concentrações muito baixas, ou mesmo não apresentar nenhum metabólito ativo sobre essas bactérias (AYRES et al., 2008).

A apolaridade da maioria dos antimicrobianos disponíveis explica uma maior atividade frente às cepas Gram-positivas, tornando-as alvos mais suscetíveis aos antibióticos

do que a cepas Gram-negativas, que apresentam resistência mecânica (TAVARES, 2001). Diante disso, há uma relação entre o teor de determinadas substâncias ativas existentes na planta e a atividade dessas substâncias contra bactérias Gram-negativas ou Gram-positivas (SRINISAVASAN et al., 2001).

Diversas pesquisas evidenciam e confirmam o promissor potencial antibacteriano do gênero *Tabebuia*. O extrato acetato de etila obtido de cascas do caule de *Tabebuia ochracea* e de *Tabebuia impetiginosa* demonstrou a capacidade de inibir o crescimento de *S. aureus* (RIFFEL et al., 2002). Esta atividade antibacteriana pode estar associada com a presença de vários princípios ou fitoconstituintes ativos, tais como compostos fenólicos e flavonóides presentes (JOSELIN et al., 2013).

Uma triagem, realizada no banco de extratos de plantas do bioma cerrado do Laboratório de Farmacognosia da Universidade de Brasília, sobre bactérias patogênicas demonstrou que a fração metanólica de extratos de *Tabebuia craiba* possui atividade antibacteriana frente às cepas de *S. epidermidis* (ALBERNAZ, 2006).

Outra pesquisa que avaliou o potencial antimicrobiano de *Tabebuia roseo-alba* (Ipê Branco) demonstrou moderada atividade antimicrobiana frente linhagens Gram-positivas: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*; e Gram-negativa: *K. pneumoniae* (SILVA et al., 2014).

A espécie *Tabebuia chrysantha* (Jacq.) Nichols apresentou um largo espectro antibacteriano, mas apenas os extratos metanólicos apresentaram maior atividade antibacteriana para *S. aureus*, porém necessitou de concentrações elevadas para obter esse efeito (PEREZ et al., 2007).

Por meio da técnica da microdiluição em caldo, o extrato etanólico de folhas de *Tabebuia pentaphylla* Vell. (ipê rosa) apresentou atividade antibacteriana contra *E. faecalis* e *E. coli*, com destaque frente à linhagem de *S.aureus*, na concentração de $0,78 \mu\text{g ml}^{-1}$, que também foi bactericida (ROCHA et al., 2013).

O *Staphylococcus aureus* foi à única estirpe sensível ao efeito de extratos e frações em diclorometano e em acetato de etila de *T. ochracea* e de *T. rosea*. Com base nestes resultados, evidenciou-se a concentração crítica de 10 mg poço^{-1} dos extratos brutos, enquanto que as frações em acetato de etilo, de ambas as espécies, exibiram uma forte atividade antibacteriana nas concentrações de 10 a 5 mg poço^{-1} , com grandes zonas uniformes de inibição, de modo que a concentração crítica para ambas as frações foi de $1,25 \text{ mg poço}^{-1}$ (OPSINA et al., 2013).

Os extratos de *Tabebuia aurea* não demonstraram ação contra o fungo *C. albicans*. Porém, os compostos isolados de cascas do caule de *T. aurea* evidenciaram atividade inibitória frente à micobactéria e aos fungos *Candida albicans* e *Monilia sitophila*

(BARBOSA-FILHO et al., 2004). Esses dados sugerem ausência ou menor concentração dos compostos com ação atinúngica em flores e folhas de *T. aurea*.

Linhagens de *Candida* sp. sofreram ação fungistática do extrato hidroglicólico de *T. avellanadae* (GLEHN; RODRIGUES, 2012). Outra pesquisa revelou forte atividade anti-cândida desta mesma espécie, com CIM variando 0,06-0,001 mg mL⁻¹ (HÖFLING et al., 2010). A espécie *T. rosea* evidenciou CIM > 0,1 mg mL⁻¹ frente a duas espécies de fungos: *Sporothrix schenckii* e *Fonsecaea pedrosoi* (GAITÁN et al., 2011). Os extratos de *T. caraiba* também evidenciaram atividade antifúngica para várias cepas de dermatófitos isolados, com maior frequência para a espécie de *Trichophyton rubrum* (YAMASHITA et al., 2009).

A atividade antifúngica destas espécies está, possivelmente, associada à presença de princípios ativos, tais como os taninos, que lesionam as moléculas da parede celular de fungos e bactérias (GLEHN; RODRIGUES, 2012), e saponinas, que alteram a permeabilidade das membranas celulares dos microrganismos causando destruição (ALONSO, 2008). Sugere-se assim, a ausência ou concentrações muito pequenas destas substâncias na espécie vegetal avaliada.

5.4 Atividade antiedematogênica

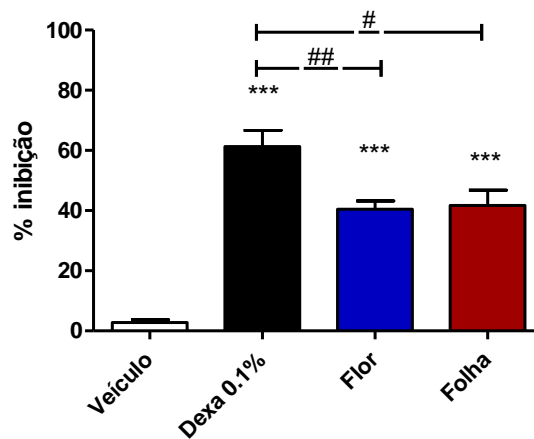
O estudo do edema de orelha foi um experimento descrito por Mantione e Rodriguez (1990) e, posteriormente modificado por Merloset et al. (1991) e Gàbor e Razga (1992). Este ensaio é realizado com intuito de verificar a atividade anti-inflamatória local e/ou antiedematogênica, no qual o edema é avaliado de acordo com a metodologia revisada por Hecker e Schmidt (1974).

Na avaliação da atividade antiedematogênica, considerada como ação anti-inflamatória tópica, foi usada a capsaicina como agente flogístico que induziu o processo inflamatório local, caracterizado pela formação de edema tecidual. A aplicação tópica de capsaicina provoca a liberação imediata e depleção de taquicininas e neuropeptídios das fibras nervosas, provocando inicialmente uma sensação de ardência e hiperalgesia, com inflamação e formação de pápula eritomatosa (MELO, 2006).

Este teste é utilizado para avaliar a atividade antiedematogênica de fármacos, compostos ou extratos vegetais. Qualquer substância que iniba a ação da capsaicina é considerada como antiedematogênica (MIRANDA, 2002). O Gráfico 2 evidencia a atividade antiedematogênica gerada pela dexametasona (inibição de 61,33± 5,40%), fármaco padrão utilizado como controle positivo.

Os extratos etanólicos de flores e de folhas também inibiram a formação do edema quando comparado com o veículo, revelando um potencial antiedematogênico, quando usados topicamente e na concentração de 0,1%. O extrato etanólico de flores apresentou uma porcentagem de inibição do edema de $40,50 \pm 2,74\%$ e o extrato etanólico de folhas de $41,73 \pm 5,08\%$. Ambos considerados estatisticamente significativos quando comparados ao veículo utilizado. Os extratos, de flores e de folhas, diferiram significativamente ($\#p < 0,05$ e $\#\#p < 0,01$, respectivamente) do fármaco padrão utilizado.

Gráfico 3 - Porcentagem de inibição do edema de orelha induzido por capsaicina promovida pelos extratos etanólicos de flores e de folhas de *Tabebuia aurea*



Fonte: Autora, 2014

Legenda: Veículo - Tween 80, etanol e acetona na concentração de 0,1%; Dexta 0,1% - Dexametasona na concentração de 0,1%; Flor - Extrato etanólico da flor de *T. aurea*. Folha - Extrato etanólico da folha de *T. aurea*. As colunas e as barras verticais representam a média \pm e.p.m., respectivamente (n=6). Os valores máximos foram considerados significativos quando $***p < 0,001$ comparado ao grupo veículo; $\#p < 0,05$ e $\#\#p < 0,01$, comparado ao grupo Dexta 0,1%, ambos usando ANOVA, seguido do teste de Bonferroni.

A capsaicina tem afinidade por receptores vaniloides. Estes receptores estão localizados nas fibras C polimodais, bem como em outros tecidos, e quando sensibilizados pela capsaicina, inicia-se uma complexa cascata de eventos, incluindo a excitação neuronal e liberação de mediadores pró-inflamatórios (CATERINA et al., 1997). As plantas medicinais contêm princípios ativos que podem agir bloqueando os receptores vaniloides da capsaicina, impedindo assim a formação do edema.

Outras espécies do gênero *Tabebuia* também evidenciaram atividade antiedematogênica. O extrato aquoso de *T. avellanadae*, avaliado pelo método de edema de pata, induzido por carragenina a 1%, inibiu o edema na dose de 200 mg kg⁻¹. Os extratos de *Tabebuia chrysanta* G. Nicholson apresentaram um efeito antiedematogênico significativo no

edema de orelha induzido acetato de 12-*o*-tetradecanoilforbol (TPA), com níveis de inibição entre 20% e 23% (OSPINA et al., 2011)

Os extratos de *T. rosea* e *T. ochracea* também apresentaram uma atividade antiedematogênica que não diferiu estatisticamente do valor apresentado pela indometacina, fármaco usado como referência, sugerindo a presença de fortes metabólitos secundários. Este enriquecimento é ativo particularmente para *T. rosea*, na qual o extrato bruto apresentou quase metade do efeito antiedematogênico (38,6%) observado para a indometacina (59,7%), mas suas frações em diclorometano (50,1%) e em acetato de etila (44,4%) apresentam valores de inibição semelhantes à indometacina, sendo consideradas promissoras, visto que essas frações primárias compõem-se de numerosos compostos (OSPINA et al., 2013).

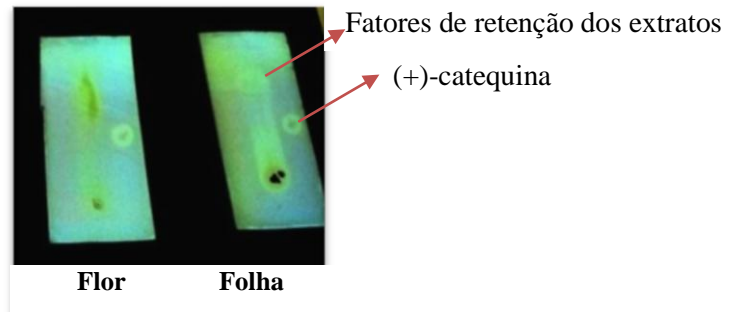
Esses resultados corroboram com os da presente pesquisa, uma vez que foram avaliados extratos brutos e esses demonstraram um potencial antiedematogênico, apresentando mais da metade do efeito observado pela dexametasona, fármaco de referência utilizado. A atividade anti-inflamatória de plantas está estreitamente relacionada aos constituintes taninos, flavonóides, cumarinas, saponinas e terpenos (PEANA et al., 2004).

5.5 Atividade antirradicalar

5.5.1 Ensaios qualitativos

As amostras vegetais de flores e de folhas de *T. aurea* sugeriram uma possível capacidade sequestradora de radicais livres, indicadas pela presença de manchas amareladas sobre o fundo roxo das cromatoplacas, quando comparadas ao controle positivo (+)-catequina, (Figura 10).

Figura 10 - Cromatoplasas dos ensaios qualitativos da atividade antirradicalar dos extratos etanólicos de flores e folhas de *Tabebuia aurea* após reação com o radical livre sintético DPPH[•]



Fonte: Autora, 2014

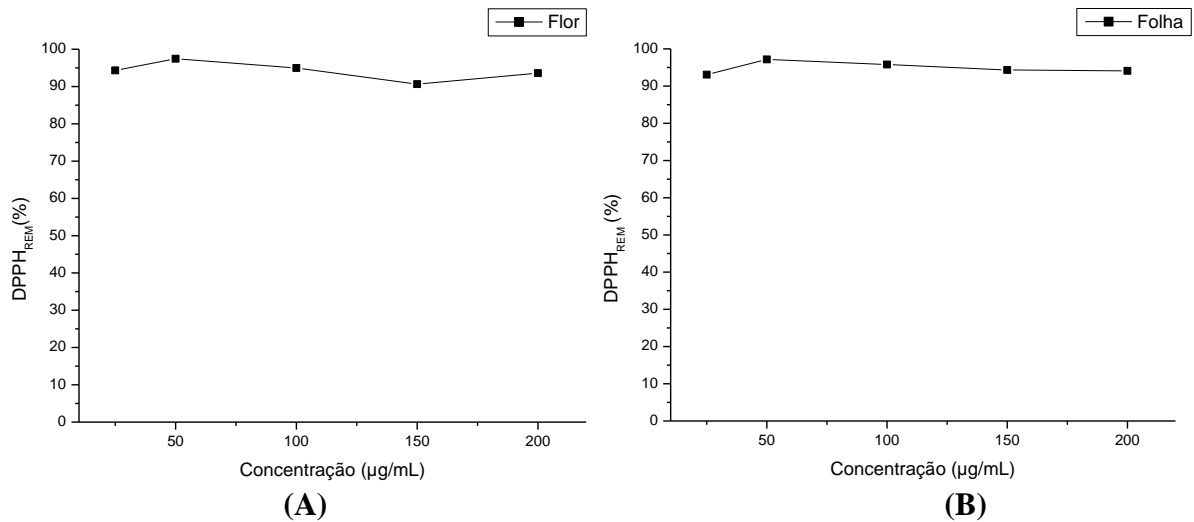
Legenda: Fatores de retenção dos extratos: manchas amareladas sob um fundo roxo, sugerindo possível capacidade sequestradora de radicais livres; (+)-catequina: controle positivo padrão.

5.5.2 Ensaio quantitativos

O radical sintético DPPH[•] é utilizado para investigar a atividade sequestradora de radicais livres de compostos fenólicos presentes em extratos vegetais. Nestes ensaios, os valores da CI₅₀ são inversamente relacionados à atividade, e essa aumenta com a diminuição do DPPH[•] remanescente no meio reacional.

Os dois extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* apresentaram resultados positivos nos ensaios qualitativos e foram submetidos à avaliação quantitativa. Neste ensaio, os valores de CI₅₀ encontrados para as amostras testadas foram superiores a 200 µg mL⁻¹, demonstrando a ausência da capacidade sequestradora de radicais livres neste teste. O Gráfico 4 evidencia o quão é insignificante a redução do radical livre pelos extratos avaliados, µg mL⁻¹, quando comparados com os padrões utilizados: ácido gálico (CI₅₀ 20,53 ± 1,34 µg mL⁻¹) e BHT (CI₅₀ 97,86 ± 2,52 µg mL⁻¹) (Gráfico 5).

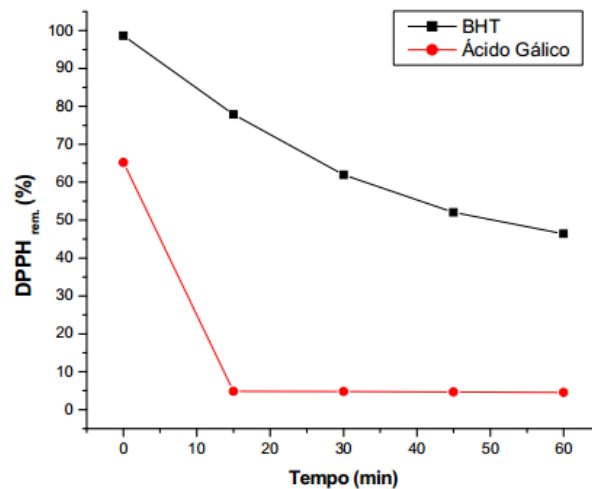
Gráfico 4 - (A) Curva da percentagem do radical livre sintético DPPH[•] remanescente frente ao extrato etanólico de flores de *Tabebuia aurea* (B) Curva da percentagem do DPPH[•] remanescente frente ao extrato etanólico de folhas de *Tabebuia aurea*



Fonte: Autora, 2014

Legenda: % DPPH_{REM}: percentagem da concentração de DPPH[•] (radical livre sintético) remanescente. Flor: Extrato etanólico de flores de *T.aurea*. Folha: Extrato etanólico de folhas de *T.aurea*.

Gráfico 5 - Cinética da percentagem do radical livre sintético DPPH[•] remanescente dos padrões sequestradores de radicais livres: ácido gálico e 2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol (BHT)



Fonte: Autora, 2014

Legenda: % DPPH_{REM} - percentagem da concentração de DPPH[•] (radical livre sintético) remanescente; BHT (2,6-di-*terc*-butil-4-metilfenol) e ácido gálico - controles positivos padrões sequestradores de radicais livres.

Corroborando com os achados da presente pesquisa, as amostras de folhas, de galhos e de cascas do caule de *T. impetiginosa* também evidenciaram resultados positivos nas avaliações qualitativas, porém nos testes quantitativos não apresentou capacidade sequestradora de radicais livres (VASCONCELOS et al., 2014).

Entretanto, extratos aquosos e metanólicos de *Tabebuia chrysantha* G. Nicholson apresentaram atividade antioxidante *in vitro* contra radicais hidroxila no ensaio de

desoxirribose. Os extratos possuíram um efeito significativo na capacidade sequestradora do radical hidroxila, entre 80% e 83% (GIRALDO et al., 2011).

Extratos e frações de cascas de *T. ochracea* e *T. rosea* apresentaram atividade sequestradora de radicais livres pelo mesmo método de mensuração da redução do radical sintético estável DPPH. O extrato bruto de *T. ochracea* foi 11 vezes mais potente do que o de *T. rosea*, por isso se apresenta promissor para o isolamento de substâncias ativas com propriedades antioxidantes. Observou-se uma atividade varredora potente nas frações em etanol e acetato de etila de *T. ochracea* e nas frações a partir de diclorometano e acetato de etila de *T. rosea* (OSPINA et al., 2013).

Seis compostos glicosídeos fenil propanóides foram identificados e isolados a partir de extratos aquosos de *T. avellanae* e todos evidenciaram uma forte atividade antirradicalar frente ao radical DPPH (SUO et al., 2013). Outro estudo que investigou a atividade antioxidante de compostos isolados desta mesma espécie revelou uma fraca atividade antioxidante (SUO et al., 2012). Os derivados do ácido benzóico e demais compostos presentes em *Tabebuia heptaphylla* e em seu extrato bruto evidenciaram promissor potencial antioxidante (VARONEZI, 2008).

Os extratos etenólicos de *T. aurea* avaliados não apresentaram atividade sequestradora de radicais livres. Entretanto, segundo Opsina et al. (2013), o fracionamento dos extratos totais de *Tabebuia* leva a um aumento significativo na atividade de eliminação de radicais livres, devido ao enriquecimento dos compostos ativos. Sendo assim, é relevante investir no fracionamento e particionamento dos extratos desta espécie, bem como na realização de outros testes de caráter antioxidante que explorem outras vias de ação.

6 CONCLUSÃO

No estudo da avaliação do potencial biológico da espécie *Tabebuia aurea* (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex. S. Moore, foi possível concluir que:

- Os extratos etanólicos de folhas e de flores no ensaio de viabilidade celular não evidenciaram citotoxicidade, exceto nas concentrações $> 0,5 \text{ mg mL}^{-1}$ para o extrato referente à flor;
- Os extratos etanólicos de flores e de folhas de *T. aurea* apresentaram atividade antibacteriana frente às bactérias Gram-positivas, principalmente frente às linhagens *S. epidermidis* e *S. aureus*, com ação bactericida e bacteriostática, respectivamente;
- De acordo com o teste de edema de orelha induzido por capsaicina, ambos os extratos inibiram o edema induzido pela capsaicina, demonstrando assim, um potencial antiedematogênico;
- Os extratos etanólicos de *T. aurea* não apresentaram uma capacidade sequestradora frente ao radical sintético estável DPPH.

Evidencia-se assim, um perfil antiedematogênico e uma promissora atividade antibacteriana com ausência de citotoxicidade da espécie *T. aurea*, comprovando seu uso popular medicinal e fornecendo indícios de segurança na utilização terapêutica da espécie vegetal. Sugere-se que estudos continuem para o isolamento dos princípios ativos, bem como para a realização de testes pré-clínicos *in vivo*.

REFERÊNCIAS

- ABDOLMALEKI, M.; et al. QSAR analysis for antimicrobial activity of veratric acid derivatives using artificial neural network. **Der. Pharma. Chemica.**, Índia, v. 5, n. 3, p. 104-111, 2013. ISSN 0975-413X
- ALBERNAZ, L.C. **Substância antimicrobiana de amplo espectro de *Tabebuia caraiba***. 2006. 91 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília, 2006.
- ALMEIDA, E. R. Preclinical and Clinical studies of lapachol and β -lapachone. **Open Nat. Prod. J.**, Saif Zone Sharjah, U.A.E, v. 2, p. 42 – 47, 2009. ISSN 1874-8481/09.
- ALMEIDA, L.C.T.; et al. Potencial antimicrobiano do óleo de coco no tratamento de feridas. **Rev. Rene.**, v. 13, n. 4, p. 880-887, 2012. ISSN 1517-3852.
- ALONSO, J.R. **Fitomedicina: curso para profissionais da área da saúde**. São Paulo: Pharmabooks, 2008.195 p.
- ALVES, C.Q.; et al. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010. ISSN 1678-7064.
- ANVISA - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Deteção e identificação de bactérias de importância médica**. Microbiologia. Serviços de saúde. Manuais. Módulo V. 2004. [acesso em: 2014 ago. 20]. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicos/saude/manuais/microbiologia/mod_5_2004.pdf
- AGRA, M.F. **Plantas da medicina popular, dos Cariris Velhos, Paraíba Brasil: espécies mais comuns**. João Pessoa: Editora União, 1996.
- ARAUJO, M.R.S.; et al. **Análise fitoquímica das folhas de espécies da família Bignoniaceae**. In: 53º CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, Rio de Janeiro/RJ, 2013. ISBN: 978-85-85905-06-4.
- AYRES, M.C.C.; et al. Atividade antibacteriana de plantas úteis e constituintes químicos da raiz de *Copernicia prunifera*. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 18, n. 1, p. 90-7. Jan./Mar., 2008. ISSN 1981-528X.
- AZEVEDO, M.M.M. **Sistemas poliméricos de liberação controlada utilizando micro e nanopartículas encapsulando violaceína: caracterização, atividade biológica, consequências e perspectivas**. 153 f. Tese (Doutorado em química) - Instituto de Química – IQ, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2005.
- BADKE, M. R., et al. Plantas medicinais: o saber sustentado na prática do cotidiano popular. **Esc. Anna Nery**, Rio de Janeiro, v. 15, n. 1, Mar., 2011. ISSN 2177-9465.
- BALICK, M.J.; COX, P.A. **Plantas, people and culture: The science of ethnobotany**. New York: Scientific American Library, 1997.

BANDONI, A.L.; et al. Survey of Argentine medicinal plants. Folklore and phytochemical screening. II. **Econ. Bot.**, v. 30, p. 161, 1976. ISSN 0013-0001.

BARBOSA-FILHO, J.M.; et al. Botanical study, phytochemistry and antimicrobial activity of *Tabebuia aurea*: (with 1 table & 1 figure). **Phyton.**, Buenos Aires, v. 73, p. 221-228, 2004, ISSN 1851-5657.

BARREIROS, A.L.B.S.; et al. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-23, Jan./Feb., 2006. ISSN 1678-7064.

BASTOS, G.M.; et al. *In vitro* determination of the antimicrobial potential of home made preparations based on medicinal plants used to treat infectious diseases. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, São Paulo, v. 32, n. 1, p. 113-20, 2011. ISSN 1808-4532.

BASTOS, M.L.A.; et al. Antimicrobial and wound healing activities of *Piper hayneanum*. **J. Chem. Pharm. Res.**, v. 3, n. 4, p. 213-22, 2011. ISSN 0975-7384.

BASTOS, M.L.A.; et al. Studies on the antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) extracts and their main constituents. **Ann Clin. Microbiol. Antimicrob.**, United Kingdom, v. 8, n. 16, p. 1-6, Mai., 2009. ISSN:1476-0711.

BATISTA, L.M.; VALENÇA, A.M.G. A fitoterapia no âmbito da atenção básica no SUS: realidades e perspectivas. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.**, João Pessoa, v. 12, n. 2, p. 293-96, abr./jun. 2012. ISSN 1983-4632.

BEDI, M.; SHENEFELT, P. Herbal therapy in dermatology. **Arch. Dermatol.**, v. 138, n. 2, p. 232, Feb., 2002. ISSN 1432-069X.

BENFATTI, C.S.; et al. Atividade antibacteriana *in vitro* de extratos brutos de espécies de *Eugenia* sp frente a cepas de mollicutes. **Rev. Pan-Amaz. Saude**, Brasília, v. 1, n. 2, p. 33-39, 2010. ISSN 2176-6223.

BINUTU, O.A.; LAJUBUTU, B.A. Antimicrobial potentials of some plant species of the Bignoniaceae family. **Afr J Med Sci.**, v. 23, n. 3, p. 269-273, 1994. ISSN 0309-3913.

BLATT, J.M.; PIAZZA, C.E. Perfil de sensibilidade de cepas de *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus coagulase negativo* isolados em pacientes internados. **RBAC**, v. 36, n. 2, p. 129-131, Feb., 2004. ISSN 0370-369X.

BOUCLIER, M.; et al. Experimental models in skin pharmacology. **Pharmacol. Rev.**, v. 42, n. 2, p. 127, Jun., 1990. ISSN 1521-0081.

BRANDÃO, G.C.; et al. Antiviral activities of plants occurring in the state of Minas Gerais, Brazil. Part 2. Screening Bignoniaceae species. **Rev. Bras. Farmacogn.**, Curitiba, v. 20, n. 5, p. 742-750, Oct./Nov., 2010. ISSN 1981-528X.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **A fitoterapia no SUS e o Programa de**

Pesquisa de Plantas Medicinais da Central de Medicamentos. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 148 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos.** Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2006a. 60 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Programa Nacional de plantas medicinais e fitoterápicos.** Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. Brasília: Ministério da Saúde, 2009. 136 p.

BYEON, S.E.; et al. *In vitro* and *in vivo* anti-inflammatory effects of taheebo, a water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **J. ethnopharmacol.**, v. 119, n. 1, p. 145–152, Sep., 2008. ISSN 0378-8741.

CALIXTO, J.B.; et al. Anti-inflammatory compounds of plant origin. Part I. Action on arachidonic acid pathways, Nitric oxide and nuclear factor k B (NF-kB). **Planta med.**, New York, v. 69, n. 11, p. 973-983, Jun., 2003. ISSN 0032-0943.

CÁRDENAS, J.E.P.; et al. Ensayo preliminar sobre los efectos en el hemograma de los extractos acuoso y metanólico de *Phenax rugosus* (poir.) wedd y *Tabebuia chrysantha* G. Nicholson. **Biosalud**, Manizales, v. 8, n. 1, Jan./Dez., 2009. ISSN 1657-9550.

CÁRDENAS, P.A., et al. Efecto de algunas especies vegetales antiinflamatorias sobre la actividad enzimática de elastasa y mieloperoxidasa. **Rev. colomb. cienc. quim. farm.**, Bogotá, v. 41, n. 2, Jul./Dec., 2012. ISSN 0034-7418.

CARELLI, G.; et al. Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de erva-mate (*Ilexpara guariensis* A. St. - Hil.) obtido por extração com CO₂ supercrítico. **Rev. bras. plantas med.**, São Paulo, v. 13, n. 1, p. 110-5, 2011. ISSN 1516-0572.

CATÃO, R.M.R.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana e efeitos biológicos de riparinas sobre eliminação de resistência a drogas em amostras de *Staphylococcus aureus**. **RBAC**; v. 42, n. 1, p. 9-14, Dez., 2010. ISSN 0370-369X.

CATERINA, M.J.; et al. The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway. **Nature.**, v. 389, n. 6653, p. 816-824, Oct., 1997. ISSN 0028-0836

CHAGAS JUNIOR, J.M.; et al. A família Bignoniaceae juss. (ipês) no município de lavras, Minas Gerais. **CERNE**, Lavras, v. 16, n. 4, p. 517-529, Out./Dez., 2010. ISSN 2317-6342.

CHENNA, P.H.; et al. Preparation and citotoxicity toward cancer cells of mono (arylimino) derivatives of a-Lapachone. **J. Med. Chem.**, v. 44, n. 15, p. 2486-2489, Jun., 2001. ISSN 1520-4804.

CHOI S-H.; et al. Clinical significance of *Staphylococcus saprophyticus* identified on blood culture in a tertiary care hospital. **Diagn. Microbiol. Infect. Dis.**, South Korea, v. 56, n. 3, p. 337-9, Oct., 2006. ISSN 1879-0070.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically**; Approved Standard. 3. ed. CLSI document M07-A9. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012a.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing**. 22. ed. Informational Supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012b.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. **Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Tests of Yeasts**; Approved Standard. 9. ed. CLSI document M27-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2008.

COBEA - Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. **Princípios Éticos na Experimentação Animal**. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br>>. Acesso em: 20 ago. 2014.

COELHO, J.M.; et al. O efeito da sulfadiazina de prata, extrato de ipê-roxo e extrato de barbatimão na cicatrização de feridas cutâneas em ratos. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, p. 045-051, Jan./Feb., 2010. ISSN 0100-6991.

CORDEIRO, C.H.G.; et al. Análise farmacognóstica e atividade antibacteriana de extratos vegetais empregados em formulação para a higiene bucal. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 42, n. 3, Jul./Sep., 2006.

CORRÊA, V.S.C.; et al. Activity of phagocytes in the Presence of the “Mais Vida” (more life) Herbal Remedy. **Braz. J. Med. Plants.**, Botucatu, v. 8, p. 26-32, Apr., 2006. ISSN 1516-9332.

COSTA, L.P.S.; et al. **Documentação química e farmacológica da espécie *Tabebuia aurea***. In: 37^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Natal-RN, 2014.

DEALEY, C. Tratamento de feridas: um guia para os enfermeiros. Lisboa: Clipmepsi, 2006. 266 p.

DUARTE, M.C.T. Atividade Antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. Universidade Estadual de Campinas. **Multiciência**, Campinas, v. 7, p. 1-16, Out., 2006. ISSN 1806-2946.

DE YOUNG, L.; et al. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. **Agents Actions.**, v. 26, n. 3-4, p. 335-341, Mar., 1989. ISSN 0065-4299.

ELDIN, S.; DUNFORD. A. **Fitoterapia na atenção primária a saúde**. São Paulo: Manole; 2001.

FERREIRA, S.B.; et al. β -Lapachona: Sua importância em química medicinal e modificações estruturais. **Rev. Virtual Quim.**, v. 2, n. 2, p. 140-160, Out., 2010. ISSN 1984-6835.

FONSECA, S.G.C.; et al. Lapachol - química, farmacologia e métodos de dosagem. **Rev. Bras. Farm.**, São Paulo, v. 84, n. 1, p. 9-16, Feb., 2008. ISSN 1809-4562.

FRANÇA, E.L.; et al. Immunomodulatory effects of herbal plants plus melatonin on human blood phagocytes. **Int. J. Phytomed.**, v. 2, p. 354-362, 2010. ISSN 0975-0185.

FRANÇA, I.S.X.; et al. Medicina popular: benefícios e malefícios das plantas medicinais. **Rev. Bras. Enferm.**, Brasília, v. 61, n. 2, p. 201-208, Mar./Abr., 2008. ISSN 0034-7167.

FRANCO, L.A.O.; et al. Antiinflammatory, antioxidant and antibacterial activity of two species of *Tabebuia* genus. **Rev. Cubana Plant. Med.**, Ciudad de la Habana, v. 18, n. 1, p. 34-46, Ene./Mar., 2013. ISSN 1028-4796.

GÀBOR, M.; RAZGA, Z. Development and inhibition of mouse ear o edema induced with capsaicin. **Agents actions.**, v. 36, n.1-2, p. 83-86, May., 1992. ISSN 0065-4299.

GAITÁN, I.; et al. Subcutaneous antifungal screening of Latin American plant extracts against *Sporothrix schenckii* and *Fonsecaea pedrosoi*. **Pharm. Biol.**, v. 49, n. 9, p. 907-919, sep., 2011. ISSN 1744-5116.

GARCEZ, F. R. et al. Novos constituintes químicos das cascas do caule de *Tabebuia Heptaphylla*. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 1887-1891, Set., 2007. ISSN 0100-4042.

GIADA, M. L. R.; MANCINI FILHO, J. Importância dos compostosfenólicos da dieta na promoção da saúde humana. **Publ. UEPG Ci. Biol. Saúde**, Ponta Grossa, v. 12, n. 4, p. 7-15, Dez., 2006. ISSN 1676-8485.

GIRALDO, L.F.O.; et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Phenax rugosus* (POIR.) wedd and *Tabebuia chrysantha* G. Nicholson. **Vitae**, Medellín, v. 18, n. 1, p. 49-55, Jan./Apr., 2011. ISSN 0121-4004.

GLEHN, E.A.V.; RODRIGUES, G.P.S. Antifungigrama para comprovar o potencial de ação dos extratos vegetais hidroglicólicos sobre *Candida* sp. (Berkhout). **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 435-438, Mar., 2012. ISSN 1516-0572.

GÓMEZ, C.J.R.; et al. Red Lapacho (*Tabebuia impetiginosa*) - a global ethnopharmacological commodity? **J. Ethnopharmacol.**, v. 121, n. 1, p. 1-13, Jan., 2009. ISSN: 0378-8741.

GONZÁLEZ-COLOMA, A.; et al. Antileishmanial, antitrypanosomal, and cytotoxic screening of ethnopharmacologically selected Peruvian plants. **Parasitol. Res.**, v. 110, n. 4, p. 1381-92, Apr., 2012. ISSN 1432-1955.

GROENEWALD, J.G.; et al. **Use of plant material or an extract of a plant of the *Coleonema* as an immune stimulant, antibacterial agent, antifungal agent, antiviral**

agent for the treatment of e.g. arthritis and HIV infection. Patent Publ. n. WO2005105124-A110. Patente n. 2005-786158 [80]. 2005.

GUPTA, M. B.; et al. Anti-inflammatory and antipyretic activities of beta-sitosterol. **Planta Med.**, v.39, p. 157–163, Jun., 1980. ISSN 0032-0943.

HECKER, E.; SCHMIDT, R. Phorbol esters: the irritants and co-carcinogens of *Croton Tiglium* L. **Fortschr. Chem. Org. Naturst.**, v. 31, p. 377-467, 1974. ISSN 1998-3743.

HEINRICH, A.M.; et al. **Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy.** Edinbrugh: Churchill Livingstone, 2004. 245-252 p.

HEMAMALINI, K.; et al. Anti -ulcer activity of methanolic extracts of *Wattakaka volubilis* and *Tabebuia rosea* in rats. **Asian J. Pharm. Clin. Res.**, v.5, Suppl 3, p. 242-246, Jul., 2012. ISSN - 0974-2441.

HÖFLING, J.F.; et al. Antimicrobial potential of some plant extracts against *Candida* species. **Braz. J. Biol.**, São Carlos, v. 70, n. 4, p. 1065-1068, Nov., 2010. ISSN 1519-6984.

HOLZER, P. Capsaicin: cellular targets, mechanism of action and selectivity for thin sensory neurons. **Pharmacol. Rev.**, v. 43, n.2, p. 143-201, Jun., 1991. ISSN 1521-0081.

HUANG, D.; et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **J. Agric. Food Chem.**, v. 53, n. 6, p. 1.841-1.856, Mar., 2005. ISSN 1097-0010.

HUSSAIN, H.; et al. Lapachol: an overview. **Arkivoc.**, v. 2, p. 145-171, 2007. ISSN 1424-6376. ISSN 1551-7004,

ISERHARD, A.R.M.; et al. Práticas culturais de cuidados de mulheres mães de recém-nascido de risco do Sul do Brasil. **Esc. Anna Nery. Rev. Enferm.**, v. 13, n. 1, p. 116-122, Jan./Mar., 2009.

JORDAN, L.A. **Natural vaginal yeast infection control.** United States Patent Application, Sep., 2005, 20050208034.

JOSELIN, J. et al. Phytochemical evaluation of Bignoniaceae flowers. **J. Chem. Pharm. Res.**, v. 5, n. 4, p. 106-111, 2013. ISSN 0975-7384.

KALIL-GASPAR, P. Neuropeptídeos na pele. **An. bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 483-498, Jul./Ago., 2003. ISSN 1806-4841

KIM, B.H.; et al. Regulation of macrophage and monocyte immune responses by water extract from the inner bark of *Tabebuia avellanedae*. **J. Med. Plant. Res.**, v. 4, n. 6, p. 431-438, Mar., 2010. ISSN 1996-0875.

KUMAR, V.; et al., Robbins & Cotran - **Bases patológicas das doenças.** 7. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 49-124 p.

LIMA, A.P.; et al. Avaliação da atividade antitumoral e citotóxica da Planta *Siolmatra brasiliensis*. **Rev. Eletrônica de Farm.**, v. 3, n. 2, p. 10-12, 2006. ISSN 1808-0804.

- LIPINSKI, L.C.; et al. Effects of 3 topical plant extracts on wound healing in beef cattle. **Afr. J. Tradit. Complement Altern. Med.**, v. 9, n. 4, p. 542-547, Jun., 2012. ISSN 0189-6016.
- LORENZI, H. **Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Nova Odessa: Ed. Plantarum, 1992.
- LU, Y.; FOO, L. Y. Identification and quantification of major polyphenols in apple pomace. **Food Chem.**, v. 59, n. 2, p. 187-197, 1997. ISSN 0308-8146.
- MAGERA JUNIOR. J.S.; ELLIOTT, D.S. Artificial Urinary Sphincter Infection: Causative Organisms in a Contemporary Series. **J Urol.**, Minnesota, v. 180, n. 6, p. 2475-8, Dec., 2008. ISSN 0022-5347.
- MAKBOUL, M.A.; et al. Estudo farmacognóstica de *Tecoma argentea* Bur. & Schum cultivada no Egito. **Boletim de ciências da Universidade de Assiut Pharmaceutical**, v. 7, p. 190, 1984.
- MANTIONE, C.R.; RODRIGUEZ, R. A bradykinin (BK) - receptor antagonist blocks capsaicin-induced ear inflammation in mice. **Br. J. Pharmacol.**, v. 99, n. 3, p. 516-518, Mar., 1990. ISSN 1476-5381.
- MARTINS, E.R.; et al. **Plantas medicinais**. 5. ed. Viçosa: UFV, 2000. 220 p.
- MARTINS, M.F.R. **Análise do potencial antimicrobiano de precursores e derivados quinolônicos análogos de norfloxacino**. 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2009.
- MATIAS, E.F.F.; et al. Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. **R. bras. Bioci.**, Porto Alegre, v. 8, n. 3, p. 294-298, Jul./Set, 2010. ISSN 1980-4849.
- MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 2. ed. Fortaleza: Edições UFC, 1997, p. 36-39.
- MELO, C.M. **Estudo da atividade antiinflamatória e antinociceptiva da lactona do ácido hawtriwaico, diterpeno de *Egletes viscosa* Less, em camundongos: possíveis mecanismos**. 2006. 103 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Ceara, Fortaleza, 2006.
- MELO, P.S.; et al. Violace in cytotoxicity and induction of apoptosis in V79 cells. **In Vitro Cell Dev. Biol.-Animal.**, v.36, n. 8, p.539, Sep., 2000. ISSN 1071-2690.
- MERLOS, M.; et al. Effects of PAF-antagonists in mouse ear o edema induced by several inflammatory agents. **Br. J. Pharmacol.**, v. 104, n. 4, p. 990-994, Dec., 1991. ISSN 1476-5381.
- MIRANDA, F.G.G.; et al. Toxicidade aguda e atividade antiedematogênica e antinociceptiva do extrato aquoso da entrecasca de *Tabebuia avellanedae* Lor. ex Griseb. **Rev. bras. farmacogn.**, Maringá, v. 12, supl. 1, 2002. ISSN 0102-695X.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **J. Immunol. Methods.**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, Dec., 1983. ISSN 0022-1759.

NÚÑEZ, V.; et al. Neutralization of the edema-forming, defibrinating and coagulant effects of *Bothrops asper* venom by extracts of plants used by healers in Colombia. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto, v. 37, n. 7, p. 969-977, Jul., 2004. ISSN 1414-431X.

OLIVERA, D.G.; et al. Antimycobacterial activity of some Brazil in indigenous medicinal drinks. **Rev. Ciênc Farm. Básica Apl.**, Araraquara, v. 28, n. 2, p.165- 9, Dec., 2007. ISSN 180-4532.

OLIVEIRA, S. **Determinação da capacidade antirradicalar de produtos naturais utilizando-se a quimiluminescência do luminol e ensaios fotométricos com radicais estáveis.** 2011. Dissertação (Mestrado em Química) – Instituto de química da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

OSPINA, L.A.F.; et al. Actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibacteriana de dos especies del género *Tabebuia*. **Rev. cubana plant. med.**, Ciudad de la Habana, v. 18 n. 1, Ene./Mar., 2013. ISSN 1028-4796.

OSPINA G., L.F.; et al. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Phenax rugosus* (POIR.)Wedd and *Tabebuia chrysantha* G. Nicholson. **Vitae**, Medellín, v. 18, n. 1, p. 49-55, Jan./Apr., 2011. ISSN 0121-4004.

PARK, B.S.; et al. Selective growth-inhibiting effects of compounds identified in *Tabebuia impetiginosa* inner bark on human intestinal bacteria. **J. Agr. Food Chem.**, Easton, v. 53, n. 4, p. 1152-1157, 2005. ISSN 1520-5118.

PEANA, A.T. et al. Effects of (-)-linalool in the acute hyperalgesia induced by carrageenan, L-glutamate and prostaglandin E2. **Eur. J. pharmacol.**, v. 497, n. 3, p. 279-284, Sep., 2004. ISSN 0014-2999.

PELCZAR JÚNIOR, M.J.; et al. **Microbiologia: conceitos e aplicações.** 2ª Ed. São Paulo: Pearson, 2005.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; et al. Validação de metodologia espectrofotométrica para quantificação dos flavonóides de *Bauhinia cheilantha* (Bongard) Steudel. **Rev. Bras. Ciênc. Farm.**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 683-689, Out./Dez., 2008. ISSN 1516-9332.

PEREIRA, A.A.; et al. Caracterização química e efeito inibitório de óleos essenciais sobre o crescimento de *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. **Ciênc. agrotec.**, Lavras v. 32, n. 3, p. 887-93, Mai./Jun., 2008. ISSN 1413-7054.

PEREIRA, I.T.; et al. Antiulcer effect of bark extract of *Tabebuia avellanedae*: activation of cell proliferation in gastric mucosa during the healing process. **Phytother. Res.**, v. 27, n. 7, p. 1067–1073, Jul., 2013. ISSN 1099-1573.

- PEREIRA, P.M.; et al. *Tabebuia avellaneda* naphthoquinones: activity against methicillin-resistant staphylococcal strains, cytotoxic activity and *in vivo* dermal irritability analysis. **Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.**, v. 5, n. 5, Mar., 2006. ISSN 1476-0711.
- PEREIRA, R.C.; et al. Plantas utilizadas como medicinais no município de campos de Goytacazes – RJ. **Rev. Bras. farmacogn.**, Maringá, v. 14, n. 1, p. 37-40, Set., 2004. ISSN 0102-695X.
- PEREZ C.; et al. Actividad antibacteriana de extractos de *Phenax rugosus* y *Tabebuia chrysantha*. **Biosalud**, Caldas, n. 6, p. 59-68, Ene./Dic., 2007. ISSN 1657-9550.
- PORTILLO, A.; et al. Antifungal activity of Paraguayan plants used in traditional medicine. **J ethnopharmacol.**, Amsterdam, v. 76, n. 1, p. 93-98, Jun., 2001. ISSN: 0378-8741.
- RATES, S.M.K. Plants as source of drugs. **Toxicon.**, Oxford, v. 39, p. 603-613, Apr., 2001. ISSN 0041-0101.
- RAUH, L.K. Avaliação da atividade antiinflamatória tópica da *Vernonia corpioides* (Lam.) persons em modelos de inflamação cutânea em camundongos. 2008. 135 f. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2008.
- RIFFEL, A. et al. *In vitro* antimicrobial activity of a new series of 1,4-naphthoquinones. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, Ribeirão Preto v. 35, n. 7, p. 811-818, Jul., 2002. ISSN 1414-431X.
- ROCHA, E.A.L.S.S; et al. Potencial antimicrobiano de seis plantas do semiárido paraibano contra bactérias relacionadas à infecção endodôntica. **Rev. Ciênc. Farm. Básica. Apl.**, Araraquara, v. 34, n. 3, p. 351-355, Set., 2013. ISSN 1808-4532.
- SÁNCHEZ, J.S. Resistência a antibióticos. **Rev. Latinoam. Microbiol.**, México, v. 48, n. 2, p. 105-12, 2006. ISSN 0187-4640.
- SANTOS, E.B.; et al. Estudo etnobotânico de plantas medicinais para problemas bucais no município de João Pessoa, Brasil. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 19, n. 1B, p. 321-324, Jan./Mar., 2009. ISSN 0102-695X.
- SANTOS, P.V.; SEBASTIANI, R. Plantas medicinais utilizadas por uma comunidade universitária no Município de São Paulo, SP. **J. Health. Sci. Inst.**; São Paulo, v. 29, n. 1, p. 11-15, 2011. ISSN 0104-1894.
- SANTOS, R.L.; et al. Análise sobre a fitoterapia como prática integrativa no Sistema Único de Saúde. **Rev. bras. plantas med.**, Botucatu, v. 13, n. 4, p. 486-491, Jul., 2011. ISSN 1516-0572.
- SANTURIO, J.M.; et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho, e canela frente a sorovares de *Salmonella enterica* de origem avícola. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 37, n. 3, p. 803-808, Mai./Jun., 2007. ISSN 0103-8478.
- SARTORI, M.R.K. **Atividade antimicrobiana de frações de extratos e compostos puros obtidos das flores da *Acmela brasiliensis* Spreng (*Wedelia paludosa*) (Asteraceae).** 2005.

81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências farmacêuticas) - Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, Julho, 2005.

SCHULTZ G.S.; et al. Wound bed preparations: a systematic approach to wound management. **Wound Rep Reg.**; v.11, n.2, Suppl. 1:S1-28, Mar., 2003. ISSN 1524-475X.

SHERWOOD, E.R.; TOLIVER-KINSKY, T. Mechanisms of the inflammatory response. **Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.**, Amsterdam, v. 18, n. 3, p. 385-405, 2004. ISSN 1878-1608.

SHU, Y. Recent natural products based drug development: a pharmaceutical industry perspective. **J. Nat. Prod.**, v. 61, n. 8, p. 1053-71, Ago., 1998. ISSN 0163-3864.

SILVA, F.M.; PAULA, J.E.; ESPINDOLA, L.S. Evaluation of the antifungal potential of Brazilian Cerrado medicinal plants. **Mycoses**, v. 52, p. 511-517, Nov., 2009. ISSN 1439-0507.

SILVA, I.E.F. **Obtenção e avaliação da atividade analgésica e antiinflamatória de extratos hidroalcoólicos de casca, folhas e flores de *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC) – ipê-roxo.** 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Promoção de Saúde) - Universidade de Franca, Franca, 2006.

SILVA, J.C.; et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand (Ipê branco). **In Derme**, Rio de Janeiro, v. 68, Jan./Mar., 2014. ISSN 1519-339X.

SILVA, T.M., et al. Molluscicidal activities of six species of Bignoniaceae from north-eastern Brazil, as measured against *Biomphalaria glabrata* under laboratory conditions. **Ann. trop. med. parasit.**, London, v. 101, p. 359-365, Jun., 2007. ISSN 1364-8594.

SILVA, T.M.; MADUREIRA, K.M. Atuação antiinflamatória do extrato de *Plantago major* em feridas pós-cirúrgicas em ovinos. In: 5ª SEMINÁRIO DE PRODUÇÃO ACADÊMICA DA ANHANGUERA EDUCACIONAL, 1., 2010. **Anais do Seminário de Produção Acadêmica da Anhanguera Educacional**, São Paulo. Disponível em: <<http://sare.unianhanguera.edu.br/index.php/ansem/article/view/2572>>

SIMMONS, D.L. What makes a good anti-inflammatory drug target? **Drug. Discov. Today**, v. 11, n. 5/6, p. 210-219, Mar., 2006. ISSN 1740-6765.

SOARES, A.K.A.; et al. Avaliação da segurança clínica de um fitoterápico contendo *Mikania glomerata*, *Grindelia robusta*, *Copaifera officinalis*, *Myroxylon toluifera*, *Nasturtium officinale*, própolis e mel em voluntários saudáveis. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 16, p. 447-54, Oct./Dec., 2006. ISSN 0102-695X.

SOLER-RIVAS, C.; et al. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of food stuffs. **Phytochem. Anal.**, v. 11, n. 5, p. 330-338, Sep./Oct., 2000. ISSN 1099-1565.

SOUSA, F.C.F.; et al. Plantas medicinais e seus constituintes bioativos: Uma revisão da bioatividade e potenciais benefícios nos distúrbios da ansiedade em modelos animais. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v. 18, n. 4, p. 642-654, Dez./Out., 2008. ISSN 0102-695X.

SOUZA, C.D; FELFILI, J.M. Uso de plantas medicinais na região do Alto do Paraíso de Goiás, GO, Brasil. **Acta Bot. Bras.**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 135-142, Jan./Mar., 2006. ISSN 0102-3306.

SRINISAVASAN, D.; et al. Antimicrobial activity of certain Indian medicinal plants used in folkloric medicine. **J. Ethnopharmacol.**, v. 74, n. 3, p. 217-220, Mar., 2001. ISSN 0378-8741.

SUFFREDINI, I.B.; DALY, D. **O Rio Negro como Cenário na Busca de Novos Medicamentos.** In: Alexandre A.O., Douglas D. (Org.). As Florestas do Rio Negro. São Paulo: Ed. Companhia das Letras, 2001. 255-281 p.

SUO, M.; et al. Anti-inflammatory constituents from *Tabebuia avellanedae*. **Fitoterapia.**, v. 83, p. 1484–1488, Dec., 2012. ISSN: 0367-326X.

SUO, M.; et al. Bioactive Phenylpropanoid Glycosides from *Tabebuia avellanedae*. **Molecules**, Basel-Switzerland, v. 18, n., 7, p. 7336-7345, Jun., 2013. ISSN 1420-3049.

SWARNALAKSHMI T, et al. Os estudos fitoquímicos *Tabebuia argêntea*. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, Índia, v. 52, p. 340, 1982. ISSN 1091-6490.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos antiinfeciosos.** 3 ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

TEIXEIRA, M.J. **Avaliação do efeito leishmanicida *in vitro* e *in vivo* de constituintes químicos ativos derivados de plantas medicinais.** 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1999.

TIAGO F. **Feridas:** etiologia e tratamento. Fundação de Apoio ao Ensino Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo. 4ª ed. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, 1997. 65-136 p.

THEODULOZ, C.; et al. Potential gastroprotective effect of novel cyperenoicacid/quinone derivatives in human cell cultures. **Planta Med**; v.78, n. 17, p.1807–1812, Nov., 2012. ISSN 0032-0943.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. **Microbiologia.** 4 ed. São Paulo: Atheneu. 2006. 718 p.

VASCONCELOS, C.M., et al. Antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activity of extracts of *Tabebuia impetiginosa* (Mart. ex DC.) Standl. **J. Chem. Pharm. Res.**, Índia, v.6, n.7, p.2673-2681, 2014. ISSN 0975-7384.

VEIGA JUNIOR, V.F. Estudo do consumo de plantas medicinais na Região Centro-Norte do Estado do Rio de Janeiro: aceitação pelos profissionais de saúde e modo de uso pela população. **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v.18, n.2, p.308-313, Abr./Jun., 2008. ISSN 0102-695X.

VERONEZI, P.O. **Avaliação das propriedades químico-biológicas de *Tabebuia heptaphylla***. 2008. 44 f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

VIRTUOSO, S. et al. Estudo preliminar da atividade antibacteriana das cascas de *Erythrina velutina* Willd., Fabaceae Leguminosae). **Rev. bras. farmacogn.**, João Pessoa, v.15, n.2, p.137-142, 2005. ISSN 0102-695X.

VON POSER, G.L.; et al. The distribution of iridoids in Bignoniaceae. **Biochem. Syst. Ecol.** v. 28, n. 4, p. 351-366, Apr., 2000. ISSN 0305-1978.

XU, J.; et al. β -Lapachone ameliorization of experimental autoimmune encephalomyelitis. **J Neuroimmunol.**, v. 254, n. 1-2, p. 46-54, Jan., 2013. ISSN 0169-5088.

WILKINSON, J.M. **Methods for Testing the Antimicrobial Activity of Extracts**. In: AHMAD, I.; AQIL, F.; OWAIS, M. (Ed.). *Modern Phytomedicine: Turning Medicinal Plants into Drugs*. 1 ed. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2007, p. 157-171.

YAMASHITA, M.; et al. Synthesis and evaluation of bioactive naphthoquinones from the Brazilian medicinal plant, *Tabebuia avellanedae*. **Bioorg. Med. Chem.**, v. 17, n. 17, p. 6286-6291, Sep., 2009. ISSN: 0968-0896.

ANEXO A - Certidão de aprovação do projeto pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA)/UFAL

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**

PARECER CONSUBSTANCIADO

PROJETO Nº 011/2014

TÍTULO: Potencial biológico da *Tabebuia aurea*: perspectiva na obtenção de um fitoterápico cicatrizante

RESPONSÁVEL / PESQUISADOR: Maria Lysete de Assis Bastos

OBJETIVO: Investigar o potencial antimicrobiano, cicatrizante, anti-inflamatório, antioxidante e citotóxico de extratos brutos e frações das flores, folhas e talos da *Tabebuia aurea*.

JUSTIFICATIVA (APROVAÇÃO, PENDÊNCIA, NEGAÇÃO):

A pesquisa proposta é de relevada importância científica apresentando justificativas plausíveis para a utilização de animais. O projeto resubmetido atendeu a todas as solicitações do parecer consubstanciado.

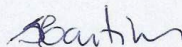
SITUAÇÃO: APROVADO

PERÍODO DE VIGÊNCIA: 24-09-2014 a 24-09-2015

DADOS DO ANIMAL:

| ESPÉCIE | LINHAGEM | QUANTIDADE |
|-------------------------|---------------|------------|
| Camundongo heterogênico | <i>Swiss</i> | 12 |
| Rato heterogênico | <i>Wistar</i> | 18 |

Maceió, 26 de setembro de 2014.



Prof.ª Dr.ª Silvana Ayres Martins
Coordenadora da CEUA/UFAL

Prof.ª Dr.ª Silvana Ayres Martins
Coordenadora da Comissão de
Ética no uso de Animais
SIAPE 1120858

ANEXO B - Declaração de registro da espécie vegetal no Instituto do Meio Ambiente de Alagoas (IMA/AL)



**INSTITUTO DO MEIO AMBIENTE DO ESTADO DE ALAGOAS - IMA
HERBÁRIO MAC**

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que as amostras de plantas coletadas pela professora **Maria Lysete de Assis Bastos**, Co-orientadora de da aluna **Raissa Fernanda Evangelista Pires dos Santos** do curso de mestrado em enfermagem da Universidade Federal de Alagoas – UFAL, depositadas no Herbário MAC do Instituto do Meio Ambiente do Estado de Alagoas, tratam-se de:

| Registro MAC | Família | Espécie |
|--------------|---------------|--|
| 56122 | Bignoniaceae | <i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook. f. ex S. Moore |
| 56123 | Fabaceae | <i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong.) Steud. |
| 56124 | Verbenaceae | <i>Lippia gracilis</i> Schauer |
| 56125 | Fabaceae | |
| 56126 | Euphorbiaceae | <i>Jatropha mollissima</i> (Pohl) Baill. |
| 56127 | Fabaceae | <i>Acacia bahiensis</i> Benth. |
| 56128 | Sapotaceae | <i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T.D.Penn. |

Maceió, 28 de novembro de 2013.

Rosângela P. Lyra Lemos
Curadora do Herbário MAC
IMA-AL

Rosângela P. de Lyra Lemos
Rosângela Pereira de Lyra Lemos
Curadora do Herbário MAC