

1 INTRODUÇÃO

A utilização de plantas medicinais no tratamento de diversas doenças é uma prática que se estende ao longo dos anos. No passado, representava a principal arma terapêutica conhecida, restrito a uma abordagem leiga dos princípios ativos, mas com bons resultados obtidos. No Brasil, a utilização de plantas no tratamento de doenças, apresenta influências indígenas, africanas e européias (SANTOS, 2010).

O uso de plantas medicinais é milenar, entretanto, desde o início deste século, tem ocorrido um crescente interesse pelo estudo de espécies vegetais e seu uso tradicional em diferentes partes do mundo (CHEIKHYOUSSEF et al., 2011).

Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 80% da população de países em desenvolvimento utilizam-se de práticas tradicionais na atenção primária à saúde e, desse total, 85% fazem uso de plantas medicinais (ROSA et al., 2011). No Brasil, 20% da população consomem 63% dos medicamentos alopáticos, o restante encontra nos produtos de origem natural, especialmente as plantas, uma fonte alternativa de medicação (MARINHO et al., 2007). Quando se trata da região Amazônica, talvez estes índices se tornem ainda maiores, pois esta região é composta por diversas comunidades isoladas por rios ou estradas não pavimentadas e o acesso aos serviços de saúde depende do deslocamento dessas populações para a cidade. Estes motivos tornam a utilização dos recursos naturais ainda maiores. Outro fator é que tradicionalmente os povos da Amazônia utilizam remédios provenientes da natureza. O conhecimento a cerca destes foram passados de geração em geração, tornando-se uma alternativa no tratamento das afecções que os acometem, seja pela dificuldade de acesso aos produtos industrializados ou pela biodiversidade de plantas encontradas na região.

Valdir-Filho e Yunes (1998) apontaram que a maioria das plantas é desconhecida sob o ponto de vista científico. Dentro de um universo de 250-500 mil espécies, somente cerca de 5% têm sua fitoquímica estudada e uma porcentagem menor, avaliadas sob os aspectos biológicos.

Dada a variedade de espécies e ao amplo uso de plantas medicinais pelas populações tradicionais, levanta-se a preocupação em relação ao seu uso de forma racional e segura, o que demanda as investigações etnobotânicas, botânicas, fitoquímicas e biológicas.

A falta de informações confiáveis e científicas a respeito de plantas medicinais promove o uso indiscriminado de várias espécies do nosso folclore, podendo acarretar efeitos indesejáveis às pessoas que as utilizam, além das possíveis interações farmacológicas. Outro agravante está no fato de espécies vegetais serem vendidas por pessoas não qualificadas, o que pode provocar equívocos em relação à identificação botânica, bem como, condições inadequadas de coleta e armazenamento. Esta prática leva a indução da automedicação comprometendo a saúde da população (DI STASI; HIRUMA-LIMA, 2002).

As plantas são constituídas de diversos elementos. Estes desempenham diversas funções Biosintética: estruturais, desenvolvimento, nutrição, reprodução, perpetuação, proteção e adaptação ao ambiente. O homem utiliza estes elementos para sua alimentação, como os frutos, tubérculos e como remédios no tratamento de diversas doenças, como os metabólitos secundários usados na formas de chás, infusões, emplastos. Estes podem também ser úteis na pesquisa de novos fármacos. A produção desses metabólitos secundários tem sua concentração variável nos vegetais, tanto em função dos fatores bióticos, quanto em relação a fatores abióticos, tais como fertilidade, tipo do solo, umidade, temperatura, disponibilidade hídrica dentre outros.

Os componentes das plantas que comumente são utilizados como remédios, são denominados metabólitos secundários, provenientes do metabolismo secundário dos vegetais. Segundo Alves (2001), uma das principais funções do metabolismo secundário nas plantas é a biossíntese de estruturas complexas como alcalóides, terpenóides e derivados de fenilpropanóides. Tais estruturas funcionam como agentes defensivos na luta contra predadores, a exemplo de microrganismos patogênicos, insetos e animais herbívoros.

O conhecimento prévio das classes de componentes químicos encontrados nos vegetais se torna necessário para fornecer a relação dos princípios ativos. Uma vez detectada a presença de determinados grupos químicos, o estudo fitoquímico e biológico é direcionado (LÔBO et al., 2010).

Nos últimos anos tem-se verificado um grande avanço científico envolvendo os estudos químicos e farmacológicos de plantas medicinais que visam obter novos compostos com propriedades terapêuticas. Isto pode ser claramente observado pelo aumento de trabalhos publicados nesta área, tanto em congressos como em periódicos nacionais e internacionais, além do surgimento de novos periódicos específicos sobre produtos naturais ativos, como *Phytomedicine*, *Phytochemical Analysis*, *Natural Product Letter*, etc (VALDIR-FILHO; YUNES, 1998).

No Brasil um fator que justifica as pesquisas com plantas medicinais é a regulamentação da produção e distribuição de produtos naturais e ainda o incentivo da utilização de plantas medicinais no Sistema Único de Saúde - SUS. A utilização das plantas medicinais para fins de terapêuticos é denominada fitoterapia e os medicamentos fabricados a partir de partes das plantas são os fitoterápicos.

Em 2006, o Governo Federal aprovou a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, por meio do Decreto Presidencial N°. 5.813 de 22 de junho de 2006. O objetivo geral desta política foi garantir à população brasileira o acesso seguro e o uso racional de plantas medicinais e fitoterápicos, promovendo o uso sustentável da biodiversidade, o desenvolvimento da cadeia produtiva e da indústria nacional (BRASIL, 2006), o que corrobora com a relevância do presente projeto.

Fitoterápicos são definidos como medicamentos farmacêuticos obtidos por processos tecnologicamente adequados, empregando-se exclusivamente matérias-primas de mistura de constituintes ativas de vegetais, sem que haja, em sua composição, substâncias ativas isoladas (CARVALHO et al., 2005).

A família Bignoniaceae é composta por diversos gêneros, cujas espécies são amplamente utilizadas na medicina popular, dentre eles temos o gênero *Fridericia*, anteriormente identificado de *Arrabidaea*. As espécies *Fridericia chica* (*A. chica*) e *Fridericia brachypoda* (*A. brachypoda*) foram bem estudadas e têm comprovada atividades farmacológicas atribuídas, principalmente como anti-inflamatórias, antimicrobiana, incluindo ação contra fungos e protozoários. A espécie *F. chica* (*A. chica*) tem grande utilização pela população, sendo comercializada em feiras e ervanários. Esses fatos tornam relevante o estudo de outras espécies do mesmo gênero, a fim de verificar as potenciais atividades farmacológicas.

O presente trabalho tem por objetivo, realizar a investigação em relação a prospecção fitoquímica e avaliação da atividade biológica das espécies *Fridericia chica* (Humb. e Bonpl.) Verl, *Fridericia brachypoda* (DC.) Bureau, *Fridericia florida* (A. DC.) LG Lohmann e *Fridericia patellifera* (Schltdl.) L.G. Lohmann da família Bignoniaceae, verificando se as características químicas e atividades biológicas destas se correlacionam, pois de acordo com as informações sobre a utilização de algumas dessas espécies, elas tem sido utilizadas com a mesma finalidade terapêutica. Essa verificação poderá possibilitar a melhor utilização das espécies pela população, podendo ainda validar o uso empírico das mesmas.

A análise fitoquímica foi realizada por meio do estudo da presença de metabólitos secundários através de ensaios qualitativos e quantitativos e as atividades biológicas foram verificadas através de ensaios farmacológicos com ratos e testes da atividade antimicrobiana utilizando as cepas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*. Todas as análises foram realizadas em extratos hidroalcoólicos (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) das plantas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Plantas Medicinais

As plantas medicinais são utilizadas há séculos pelas populações como recurso para combater suas enfermidades. Estudos etnobotânicos revelam que um número considerável de diferentes vegetais vem sendo utilizado com finalidade terapêutica. (CRAIG, 1999).

Os primeiros registros sobre a utilização de plantas medicinais é datado de 1.500 a.C. Em manuscritos Egípcios de 1.500 a.C relatam a indicação de algumas plantas são utilizadas até hoje, como a Ginseng, a Ephedra, inclusive pela indústria farmacêutica. Outro registro foi encontrado em 500 a.C, em um texto Chinês que revelou nomes, doses e indicação de tratamento. (DUARTE, 2006).

As espécies vegetais são amplamente utilizadas no tratamento das enfermidades pela população, principalmente em países em desenvolvimento, devido o difícil acesso aos medicamentos industrializados ou simplesmente pelo costume popular, passado de geração em geração. Segundo a Organização Mundial de Saúde - OMS, aproximadamente 75% da população mundial recorre à medicina tradicional como tratamento primário de saúde (MARQUES, 1998).

Durante muito tempo, as plantas medicinais e seus derivados consistiram a principal base da terapêutica até a Revolução Industrial. Atualmente 25% dos fármacos encontrados no mercado mundial são de origem vegetal, enquanto 50% são sintéticos, relacionados aos princípios isolados de plantas medicinais (SCHULZ et al., 2002).

Nos últimos anos vem crescendo o interesse pelas terapias alternativas e por produtos naturais na terapêutica, especialmente aqueles derivados de plantas. Este interesse é devido a inúmeras razões, dentre elas, encontram-se os efeitos colaterais da medicina convencional, o uso abusivo e/ou incorreto dos fármacos sintéticos que resultam em efeitos indesejáveis e outros problemas, e ainda que uma grande parte da população não tem acesso a tratamento farmacológico (RATES, 2001).

Os produtos naturais também podem servir como protótipos ou modelos estruturais, para a obtenção de análogos, que futuramente poderão ser potenciais candidatos a medicamentos sintéticos ou semi-sintéticos, cujas atividades farmacológicas poderão ser mais eficazes que os fármacos originais (BARREIRO; FRAGA, 2001).

O ponto de partida para o estudo de plantas medicinais é a investigação etnobotânica. Este estudo consiste no levantamento de informações do uso empírico de plantas com fins medicinais pelas populações. As indicações etnobotânicas nortearam o estudo de diversos vegetais que atualmente tem seu uso consolidado e reconhecido pela medicina, além de terem sido base para estudos de diversos fármacos sintéticos que são produzidos industrialmente.

A característica básica do estudo etnobotânico é o contato direto com as populações tradicionais, resgatando todo o conhecimento possível sobre a relação de afinidade entre os habitantes e as plantas. Muitos estudos etnobotânicos estão sendo desenvolvidos no Brasil e no mundo, em busca de um melhor conhecimento da medicina dos povos tradicionais e ou contemporâneos para uma melhor organização científica deste conhecimento popular (OLIVEIRA et al., 2010).

Com base nas informações etnobotânicas e etnofarmacológicas, são escolhidas as espécies para a análise fitoquímica. As plantas apresentam compostos originados nas vias metabólicas como flavonóides, alcalóides, taninos, glicosídeos, cumarinas, terpeno entre outros, que podem apresentar propriedades biológicas caracterizando como um possível fármaco (SIMÕES et al., 2003).

A análise fitoquímica permite verificar quais os metabólitos secundários estão presentes na planta e posteriormente isolar e identificar os compostos quimicamente ativos. Paralelamente aos estudos fitoquímicos são realizados os estudos biológicos, que comprovam a atividade desses compostos, fornecendo informações para o uso adequado das plantas medicinais e ainda subsidiar o desenvolvimento de novos fármacos.

Fitoterápico pode ser definido como todo medicamento tecnicamente elaborado, empregando-se exclusivamente, matéria ativa vegetal, com finalidade profilática, curativa ou para fins de diagnóstico. Não sendo considerado produto

fitoterápico qualquer substância ativa, ainda que de origem vegetal, isoladas ou suas misturas (BRASIL, 2006).

No Brasil o uso de produtos fitoterápicos foi incentivado pelo governo federal, que por meio da Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápico busca promover o acesso seguro e racional da população a esses produtos, bem como, promover o uso sustentável da biodiversidade e desenvolver a cadeia produtiva e a indústria nacional (BRASIL, 2006).

O governo mantém uma lista de plantas de interesse terapêutico, a RENISUS, que elenca as plantas de uso medicinal popular e que carecem de maiores investigações. As plantas com suas indicações validadas farão parte da RENAFITO, que é a relação nacional de plantas medicinais e fitoterápico. A RENAFITO subsidia a prescrição de fitoterápicos no âmbito dos serviços de saúde e integra a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde - SUS (BRASIL 2006).

2.2 Estudo das Atividades Biológicas

2.2.1 Atividade Antimicrobiana

As pesquisas sobre investigação de produtos naturais ativos contra microorganismos aumentaram significativamente nos últimos anos. No Brasil os primeiros estudos microbiológicos de plantas medicinais datam de 1948, onde Cardoso; Santos (1946) realizaram trabalhos com 100 plantas, utilizadas como anti-inflamatória e cicatrizante. Neste estudo foram verificados cinco extratos com atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* e *Proteus*. Estudos dessa natureza são importantes devido ao aumento no número de cepas resistentes aos antibióticos convencionais.

A resistência microbiana é um grave problema mundial, estando associada ao aumento do tempo de internação, dos custos do tratamento e das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes. O uso indiscriminado e incorreto dos antimicrobianos na comunidade e no ambiente hospitalar é reconhecidamente um

importante fator de risco para o aparecimento e a disseminação da resistência microbiana (BRASIL, 2013). Nesse contexto são necessárias estratégias e pesquisas a fim de evitar o aparecimento e disseminação da resistência bacteriana, bem como para a descoberta de novos fármacos antimicrobianos. Duarte (2006) coloca que a resistência aos antimicrobianos é um caso bem documentado da evolução humana, acometendo indivíduos em países desenvolvidos e em desenvolvimento, tornando-se um problema de saúde pública. Relatou também que nos últimos anos não foram descobertos nenhuma classe nova de antibiótico, apesar das intensas pesquisas.

O *S. aureus* é uma bactéria Gram positiva, sendo um dos principais causadores de infecções em humanos, tanto no meio hospitalar quanto na comunidade. São responsáveis por infecções de pele, tecidos mole, pneumonias e endocardites, possuem grande capacidade de desenvolver resistência a antimicrobianos. Enquanto que a *E. coli* é uma Gram negativa pertencente à família Enterobacteriaceae, proveniente da flora intestinal é responsável por quadros clínicos não complicados até quadros graves como a pielonefrite (MOURA; FERNANDES, 2010). Sendo ainda o principal agente causador de infecções do trato urinário (MENEZES et al., 2009; LO SWEI et al, 2013; MILAGRES; MELLES, 1992). Este patógeno também é causador de diarreias, principalmente em crianças (ANDRADE, et al., 2011).

A *P. aeruginosa* causadora de infecções sanguíneas em neonatos prematuros em uso de antibióticos, responsável por elevada taxa de mortalidade em unidade neonatal por apresentar multirresistência (FUENTEFRÍA et al., 2008; CARNEIRO, et al., 2007). É o mais importante patógeno humano do gênero, faz parte da microbiota humana e dificilmente causa infecções comunitárias em indivíduos saudáveis. No entanto em ambiente hospitalar torna-se importante agente infeccioso. Paviane e colaboradores (2004) verificaram em um hospital de Porto Alegre que em unidades de internação este bacilo Gram negativo foi o quarto agente causador de infecções, enquanto que na unidade terapia intensiva passou a ser o segundo responsável por infecções.

O *S. saprophyticus* é uma bactéria Gram positiva frequentemente isolado em infecções do trato urinário em mulheres jovens e sexualmente ativas, em alguns países é o segundo agente causador de infecção do trato urinário, após a

Escherichia coli. (LO SWEI et al., 2013). Foram encontrados relatos de infecção renal por este agente (MILAGRES, MELLES, 1992).

As estruturas bacterianas podem ser internas e externas, as estruturas externas compreendem a parede, flagelos, fimbrias (pelos) e glicocálice, enquanto as internas são membranas, citoplasma, inclusão citoplasmática e endósporos (JORGE, 2010).

A parede celular é uma estrutura importante na bactéria, ela dá forma à célula e encontra-se abaixo das estruturas extracelulares e externamente à membrana. Sua função é a de proporcionar uma moldura rígida de proteção de lesões osmóticas, perda de enzimas e influxo de substâncias danosas à célula, além de ser útil na identificação e classificação das bactérias (JORGE, 2010).

O peptídeoglicano ou mureína é o componente da parede celular, A parede das bactérias gram-positivas é formada por ácido teicóico, além de peptídeoglicano que corresponde a uma fração maior que a existente nas bactérias gram-negativas, a parede das bactérias gram-negativas é mais complexa (JORGE, 2010).

As características da parede celular das bactérias estão relacionadas à sua patogenicidade e a atuação dos antibióticos.

Atualmente, existem vários métodos para avaliar a atividade antibacteriana e antifúngica de extratos vegetais. Os mais conhecidos incluem método de difusão em ágar, macrodiluição e microdiluição. A quantidade da substância necessária para inibir a ação do micro-organismo é denominada de Concentração Inibitória Mínima (CIM). Realizando uma revisão dos métodos utilizados em pesquisa, Ostrosky et al. (2008) concluíram que o método de difusão em ágar é o método mais utilizado devido à simplicidade de execução e o baixo custo e o método de microdiluição vem sendo muito utilizado em virtude da sensibilidade da quantidade mínima de reagentes utilizados.

Dois antimicrobianos muito usados como referência nas pesquisas de novas espécies vegetais com propriedades anti-infecciosos são: norfloxacino [1] pertencente a classe das fluorquinolonas um bactericida com ação antipseudomonas, altamente potente contra micro-organismos gram-negativos. Indicado no tratamento de infecções do trato urinário, antibiótico de escolha em gastroenterite bacteriana, atua inibindo a enzima DNA girase, enzima essencial para as bactérias e a amoxicilina [2] um antibiótico β lactâmico da classe das penicilinas (Figura 1), bactericida de amplo espectro. Indicada no tratamento de infecções de

feridas causadas por queimaduras da pele, dos tecidos moles, do trato biliar e geniturinário, além de otite, bronquite, faringite bacteriana, sinusite e febre tifoide, atua inibindo a síntese da parede celular, unindo-se a enzima transpeptidase (KOROLKOVAS et al., 2013).

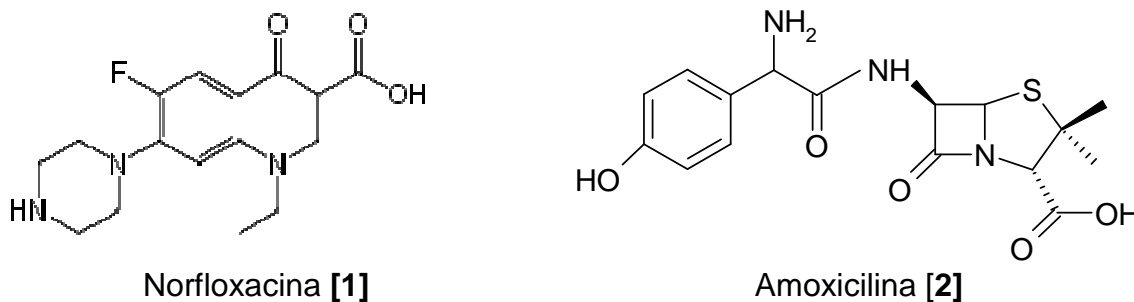


Figura 1 – Estruturas químicas dos dois antimicrobianos usados como referência

2.3 Atividade Farmacológica

2.3.1 Atividade Analgésica

De acordo com Guynton (2006), a dor ocorre sempre que qualquer tecido é lesionado, fazendo com que o indivíduo reaja para remover o estímulo doloroso. A dor é um fenômeno e do ponto de vista evolutivo, é um sinal de alarme frente a um processo de agressão ao organismo com ameaça a sua integridade gerada pelo sistema nervoso central (SNC). Esse alarme deflagra um conjunto de reações de adaptação de ordem psicofisiológica, autônoma e motora que visa afastar o organismo da fonte de agressão, preparando-o para a reação de “luta ou fuga” e preservar sua integridade (OLIVEIRA, 1979).

Os testes de analgesia são realizados geralmente com dois modelos experimentais: o das contorções abdominais induzidas por ácido acético e o da reação ao calor lesivo aplicado nas patas (Hot Plate) ou caldas dos camundongos. O primeiro baseia-se na contagem das contrações da parte abdominal seguidas por torção do tronco e extensão dos membros posteriores (contorções), produzidas como respostas reflexas à irritação peritoneal e à peritonite induzidas por ácidos fracos ou outros agentes

inflamatórios. O segundo mede a latência da resposta de fuga ou de autoproteção contra estímulo doloroso (LAPA; LIMA, 2001).

O teste das contorções é amplamente utilizado na pesquisa de drogas analgésicas com ação anti-inflamatória, enquanto que os testes da reação ao calor para estudo de compostos com ação analgésica exercida por mecanismos centrais semelhantes aos opiáceos (LAPA; LIMA, 2001).

2.3.2 Atividade Anti-Inflamatória

A inflamação é uma reação complexa a vários agentes nocivos, como microrganismos e células danificadas, geralmente necróticas, que consiste de respostas vasculares, migração e ativação de leucócitos e reações sistêmicas. É fundamentalmente um mecanismo de defesa, cujo objetivo final é a eliminação da causa inicial da lesão celular e das consequências de tal lesão (KUMAR; ABBA, 2005).

A avaliação da atividade anti-inflamatória é realizada a partir da verificação da ação antiedematogênica, onde um edema de pata em camundongos e ratos é induzido por um agente flogístico (LAPA; LIMA, 2001).

O edema induzido por carragenina é um modelo muito usado ao estudo da ação de anti-inflamatórios esteroidais e inibidores da cicloxigenase, como a aspirina, que bloqueiam a síntese das prostaglandinas (LAPA; LIMA, 2001).

2.4 Família Bignoniaceae

A família Bignoniaceae juss com uma grande quantidade de espécies nativas no Brasil, representa um potencial para a produção de fitoterápicos. A família apresenta 120 gêneros e cerca de 800 espécies, com distribuição predominantemente nas regiões tropicais e subtropicais, com raras espécies em clima temperado, ocorrendo principalmente na América do Sul. A família é

constituída de oito tribos: *Tecomeae*, *Bignoniaceae*, *Crescentieae*, *Eccremocarpeae*, *Tourrettieae*, *Oroxyleae*, *Coleaeae* e *Schlegelieae* (VON POSER et al., 2000). Metade dessas tribos ocorrem no Brasil, considerado o centro de diversificação da família, com 450 espécies distribuídas em 51 gêneros, sendo 40 pertencente a tribo Bignoniaceae, dentre estes destaca-se o gênero *Fridericia*, sinônimo botânico *Arrabidaea*. A família é facilmente reconhecida por suas características morfológicas por apresentar folhas normalmente compostas e opostas, flores gamopétalas com tubos e lobos bem definidos, frequentemente com quatro estames, ovário súpero quase sempre bilocular (SCUDELLER, 2004).

Conforme levantamento bibliográfico realizado por Scogin (1980), o principal constituinte químico presente na família Bignoniaceae, é um pigmento constituído por duas antocianidinas identificadas por cianidina-3-glicosídeo [3] e cianidina-3-rutenosídeo [4] (Figura 2, Pág. 25) que se encontram presente em 84% dos táxons examinados, ocorrendo também em todas as tribos pertencentes a família Bignoniaceae.

Algumas espécies da família também são utilizadas como ornamental, entretanto o seu uso na medicina tradicional é amplamente difundido. Várias espécies têm o uso medicinal propalado pelas comunidades tradicionais e estudo biológico de algumas dessas espécies foi comprovada a eficácia farmacológica (GUPTA, 1993; SILVA et al., 2007; ESTEVEZ et al., 2007; SARDI et al., 2011; SANTOS et al., 2012).

O presente estudo foi realizado com 4 (quatro) espécies do gênero *Arrabidaea* da família Bignoniaceae. Recentemente esse gênero sofreu reclassificação, sendo atualmente identificado botanicamente pelo gênero *Fridericia* (PORT'S, et al. 2013).

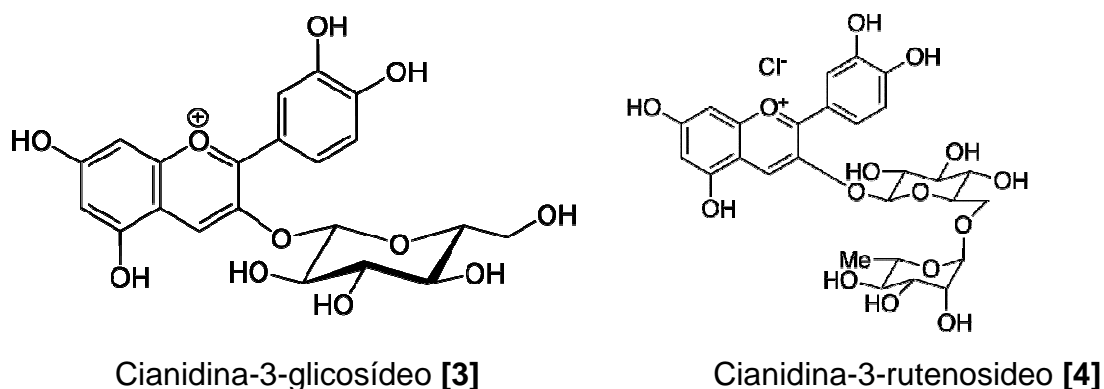


Figura 2 - Principais antocianidinas isoladas de espécies da família Bignoniaceae.

2.5 *Fridericia chica* (Humb. e Bonpl.) Verl.

A espécie *F. chica* (*A. chica*) é uma espécie difundida largamente na região Amazônica, conhecida popularmente com o nome de crajirú. É uma espécie escandente e semiarbusciva, cujas folhas são opostas cruzadas, compostas trifolioladas, porém com o folíolo terminal modificado em gavinha nas porções superiores dos ramos (Figura 3, Pág. 26). O limbo dos folíolos se apresenta com formato oblongo-lanceolado, com base obtusa, com ápice agudo, com margem inteira, com consistência herbácea com superfície glabra e a nervação do tipo peninérvia (PUHL, et al., 2007).

De acordo com Zorn et al (2001), a planta é uma trepadeira com flores róseas ou violáceas (Fig. 4, Pág. 26) são usadas para tatuagem por índios do nordeste do Brasil, devido a presença do pigmento presente nas folhas.

É uma planta de clima tropical encontrada na América do Sul, sendo no Brasil amplamente distribuído, utilizado para fins medicinais no tratamento de anemias, inflamações, principalmente do sistema genital feminino, contra cólicas abdominais.

Além dos estudos fitoquímicos, a literatura registrou estudos biológicos e atividade farmacológica, realizados com os compostos químicos isolados e o estabelecimento de pré-formulações. Takemura et al. (1995) descreveram os usos medicinais da espécie na região Amazônica como sendo: anti-inflamatório, adstringente, no tratamento de cólicas intestinais, diarreias sanguinolentas,

leucorreias e contra anemias e leucemias. Levantamento realizado com 50 (cinquenta), pessoas moradoras do município de Cujubim estado de Rondônia, demonstrou que há amplo uso da espécie *F. chica*, (*A. chica*). Dentre esse quantitativo de usuários, 26 (vinte e seis) utilizavam a planta com finalidade medicinal, sendo 24 (vinte e quatro) utilizavam para no tratamento de infecção, 1 (uma) como anti-inflamatória e 1 (uma) contra anemia. Todos afirmaram usar as folhas na forma de decocto (SANTOS; LIMA, 2009).



Folhas de *Fridericia chica* (Foto da autora)



Floração da *Fridericia chica* Fonte: www.plantamed.com.br

Figura 3 - Anatomia da folha de flores de *Fridericia chica* (*A. chica*)

Harborne (1967) realizando estudos sobre a bioquímica de flavonóides relatou que a coloração das flores nas espécies vegetais da família Bignoniaceae era devido a presença de flavonóides. Conforme seus estudos os pigmentos presentes nas pétalas da *Arrabidaea chica* atualmente *Fridericia chica* foram identificados como sendo a 6,7,4-tri-hidroxi-5'-metoxiflavilio ou Carajurona [5] e 6,7-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavilio ou Carajurina [6] (Figura 4, Pág. 27).

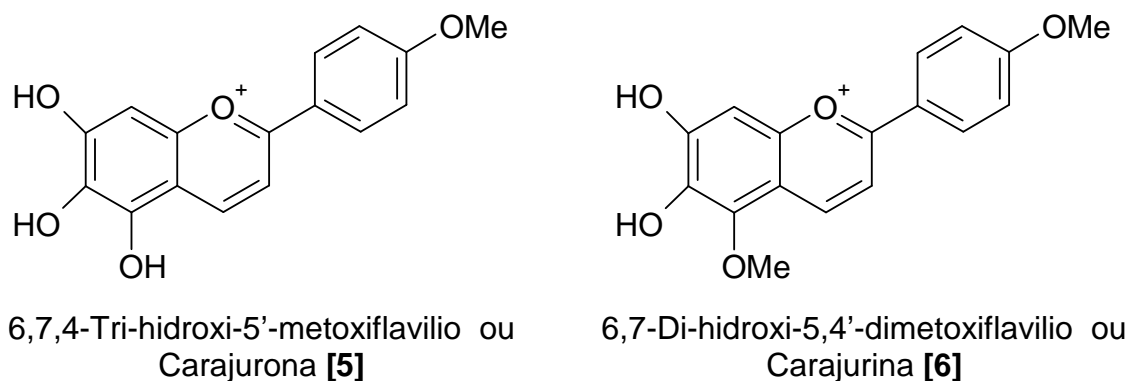


Figura 4 – Antocianidinas que atribuem as cores das floras da *F. chica* (*A. chica*)

Takemura et al., (1995) isolou uma nova flavona das folhas de *F. chica* (*A. chica*) que foi identificada através de dados espectroscópicos como sendo 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavona ou carajuflavona [7] além da 5,7,3',4'-Tetrahidroxi-flavona ou luteolina [8] (Figura 5)

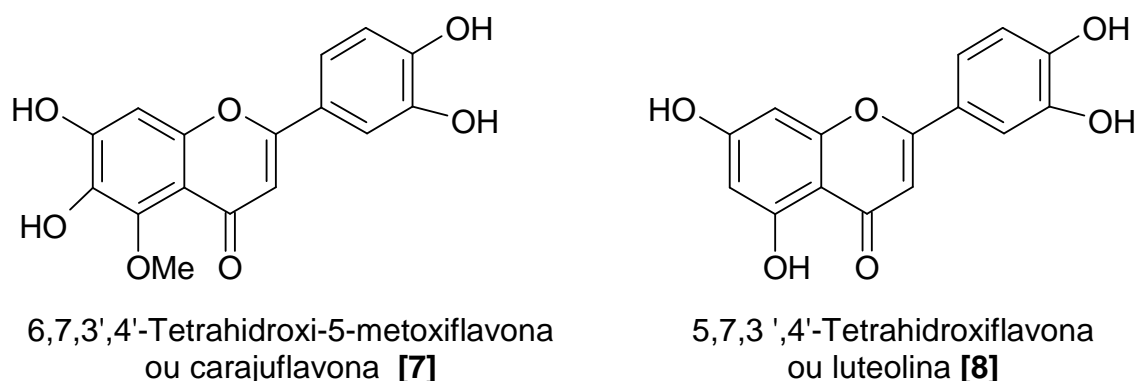


Figura 5 – Flavonas isoladas das folhas de *F. chica* (*A. chica*)

O estudo fitoquímico das folhas de *F. chica* (*A. chica*) realizado por Zorn et al., (2001) levou ao isolamento de 4 (quatro) antocianidinas: 6,7-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavílio ou carajurina [6], 6,7,4'-tri-hidroxi-5-metoxiflavílio [9], 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavílio [10], 6,7,3'-tri-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavílio [11] e uma flavona 5,7-di-hidroxi-4'-metoxiflavona ou acetina [12] (Figura 6, Pág. 28). Dois extratos, um lipofílico e um hidrofílicos foram analisados a ação anti-inflamatória sobre fator de necrose tumoral (NF- κ β). Os resultados revelaram a ação do extrato

lipofílico com inibição na concentração de 200 $\mu\text{g mL}^{-1}$ e o extrato hidrofílico nas concentrações acima de 500 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

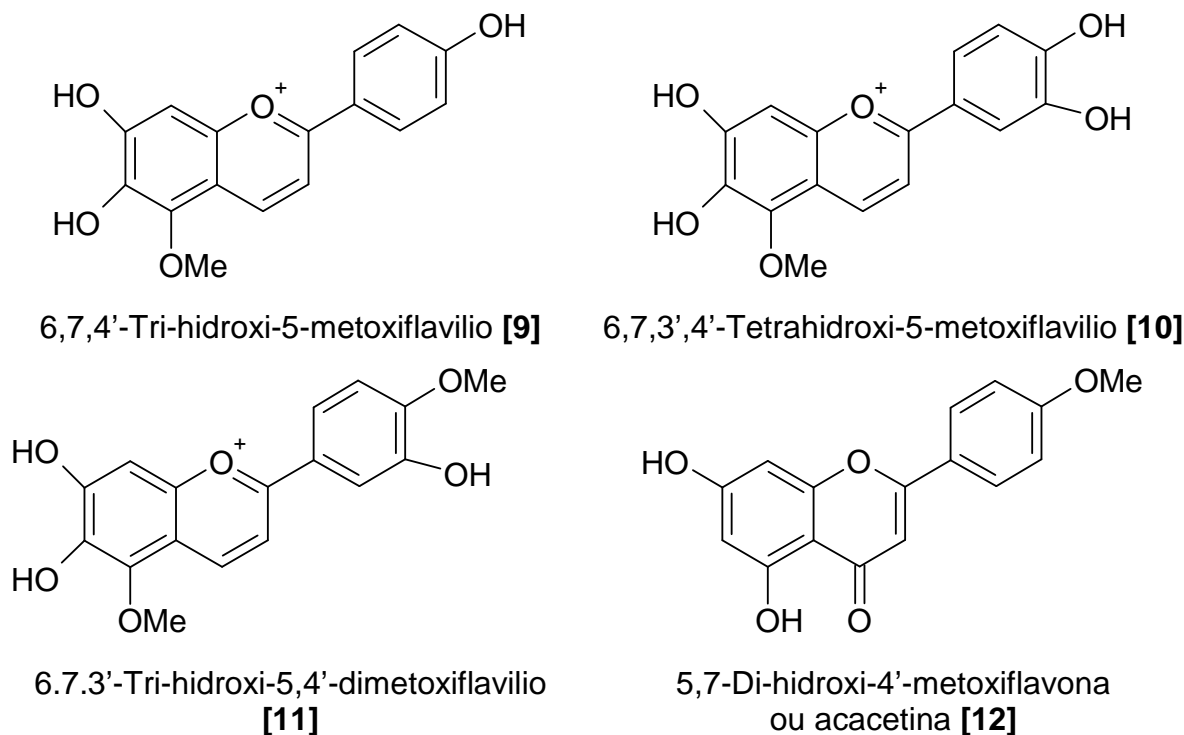


Figura 6 – Antocianidinas e flavona isolados dos extratos hidrofílico e lipofílicos com ação anti-inflamatória.

Estudos realizados por Jorge et al. (2008) sobre a avaliação das propriedades de *F. chica* (*A. chica*) sobre a cicatrização de feridas revelou eficácia no processo de cicatrização. Foi analisado o extrato de folhas frescas utilizando uma mistura de solvente de metanol com 3% (três por cento) de ácido acético, obtido por maceração a temperatura ambiente. O extrato foi analisado em HPLC registrando a presença de carajurina ou 6,7-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavona [6] e carajurona [5]. Neste trabalho, os autores redefiniram a estrutura da carajurona [5] para 6,7,4'-tri-hidroxi-5'-metoxiflavílio [13] (Figura 7, Pág. 29). O extrato estimulou o crescimento de fibroblastos na concentração ideal de $EC_{50} = 30 \mu\text{g mL}^{-1}$, aumento da produção de colágenos e uma capacidade antioxidante moderada *in vitro*. O tamanho das feridas foi reduzido em 96% (noventa e seis por cento) enquanto o grupo de soro fisiológico mostrou redução de apenas 36% (trinta e seis por cento) de cicatrização da ferida.

A *F. chica* possui grande potencial farmacológico. Na literatura científica é possível encontrar uma diversidade de estudos sobre esta planta e as investigações não se esgotaram, visto que há publicações de 30 (trinta) anos atrás e do presente ano. Taffarelo et al., (2013) realizou estudo de folhas desta espécie de acessos oriundos de diversos localidades do país. Os autores identificaram a presença dos constituintes: 6,7,3',4'-tetrahidroxi-5-metoxiflavilio **[10]**, 6,7,3'-trihidroxi-5-metoxiflavilio **[14]** (Figura 7), 6,7-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavilio ou carajurina **[6]**, além das flavonas: 7,4'-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavona ou carajuruflavona **[7]**.

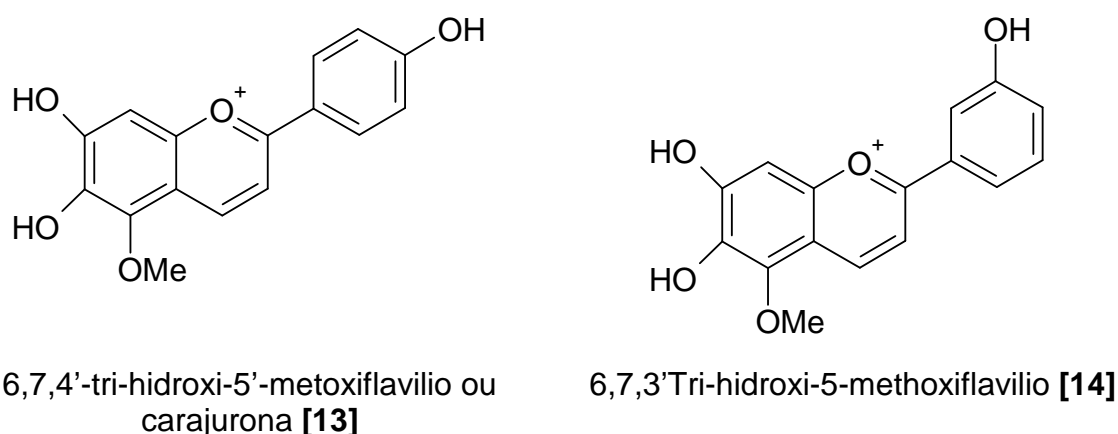
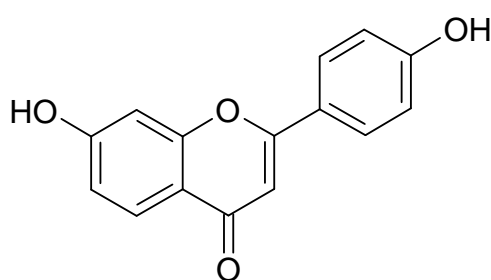


Figura 7 – Antocianidinas isoladas do extrato metanol a 3% de ácido acético com ação cicatrizante

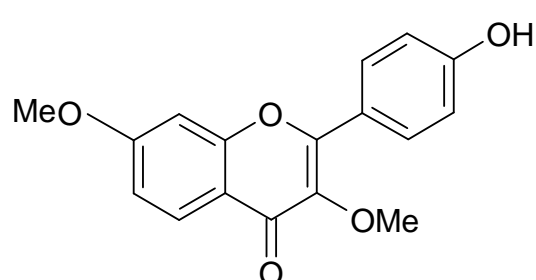
Neste estudo, visando a padronização da matéria – prima e a exploração sustentável da espécie, utilizaram marcadores genéticos em exemplares do banco germoplasma do Centro de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas da Universidade Estadual de Campinas. Na comparação da concentração dos constituintes 6,7-di-hidroxi-5,4'-dimetoxiflavilio ou carajurina **[6]** verificou-se que o proveniente do Paraná apresentou concentração não detectável e a proveniente do Amazonas foi a que apresentou maiores concentrações do pigmento, sendo utilizada para continuação do estudo. Neste trabalho os autores ainda, verificaram a variação da concentração dos pigmentos pela sazonalidade e as atividades antioxidantes, cicatrizante e antitumoral em diferentes tratamentos enzimáticos dos extratos. Em relação a atividade antiproliferativa *in vitro* foram avaliadas em 9 (nove) linhagem de células tumorais humanas apresentando expressivos valores de inibição total de crescimento, em algumas linhagem de células tumorais.

Ensaio antitumorais, também foram realizados com extratos obtidos das folhas de *F. chica* (*A. chica*). Ribeiro et al., (2012) verificou atividade dos extratos aquoso e etanólico na inibição do crescimento de tumor em ratos, observando uma redução significativa no crescimento dos tumores.

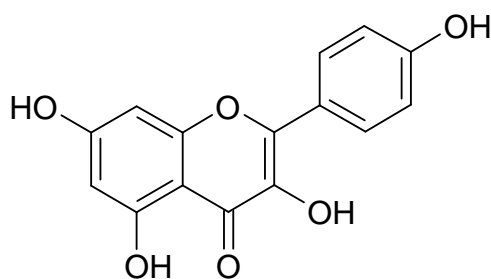
Outros estudos a cerca de sua composição química foram também realizados por Barbosa et al., (2008). Esses estudos foram realizados com o extrato etanólico obtidos por maceração a temperatura ambiente. A presença dos seguintes metabólitos secundários: antocianidinas, antocianinas, antraquinona, catequinas, ácidos orgânicos, esteróides, xantonas, taninos, flavonóides, flavanona foram identificadas por prospecção fitoquímica no extrato etanólico. Além dessa prospecção fitoquímica foram também isolados os seguintes flavonóides: 4'-hidroxi-3,7-dimetoxiflavona [16], 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona [17] e 6,8-di-C- β -glicopiranosil-5,7,4'-tri-hidroxiflavona ou vicenina – 2 [18] (Figura 7). Os autores verificaram as atividades antifúngicas e tripanocida do extrato etanólico, de onde isolaram os três flavonóides.



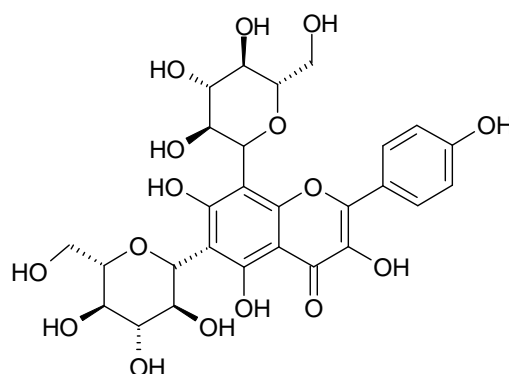
7,4'-Di-hidroxiflavona [15]



4'-hidroxi-3,7-dimetoxiflavona [16]



3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona [17]



6,8-Di-C- β -glicopiranosil-5,7,4'-tri-hidroxiflavona ou vicenina – 2 [18]

Figura 8 - Flavonoides isolados de *F. chica* (*A. chica*) do extrato etanólico

Estudo da atividade antiedematogênica do extrato aquoso da planta frente a edema induzido por veneno de serpente, demonstrou atividade anti-inflamatória para administração subcutânea e intraperitoneal na análise histopatológica das patas de camundongos. Neste trabalho os autores associaram às ações da espécie a presença dos flavonóides e salientou o potencial biotecnológico do extrato aquoso para obtenção de princípios ativos anti-inflamatório. (OLIVEIRA et al., 2009). A presença de compostos fenólicos tais como: flavonóides e antocianinas nas espécies da família Bignoniaceae são conhecidos (HARBONE, 1967, PORT'S, et al., 2013). O isolamento desses compostos indica potencial ação anti-inflamatória e antimicrobiana para a família. Estudo realizado com as folhas de *Fridericia chica* (*A. chica*), avaliando as atividades biológicas em diferentes modelos experimentais, tem seu efeito farmacológico atribuído aos flavonóides (OLIVEIRA, et al., 2009).

Alves et al., (2010) estudando as propriedades farmacognósticas das folhas de *F. chica* (*A. chica*) apresentou os resultados de uma abordagem fitoquímica, verificando a presença dos mesmos constituintes encontrados por Barbosa et al. (2008).

Em 2008 a espécie foi incluída a lista RENISUS do Ministério da Saúde que inclui as plantas medicinais com amplo uso popular, com publicações, mas que ainda necessitam de maiores investigações para confirmação das atividades (RENISUS, 2013).

2.6 *Fridericia brachypoda* (DC.) Bureau

A espécie *Frederica brachypoda* (*Arrabideae brachypoda*) se caracteriza pelas folhas unifoliadas e pela presença de campo de glândulas interpeciolares (Figura 9, Pág. 32). De hábito subarbusto a arbusto com caule levemente estriado. Nativa do cerrado brasileiro, apresentando altura que varia de 1 a 2 metros, bastante ramificada, com flores rosa e roxo (SCUDELLER, 2004), esta espécie é conhecida pelos nomes populares: cipó-uma e tintureiro (ALCERITO, et al., 2002).



Figura 9 - Aspecto morfológico das flores e dos galhos de *F. brachypoda* (*A. brachypoda*)
 Fonte: http://www.sunshine-seeds.de/product_info.php

Estudos realizados por Alcerito et al., (2002) com a cera epicuticular de *F. brachypoda* (*A. brachypoda*) permitiu o isolamento de quatro flavonóides. Apesar de ser raro, o número de registros de ocorrência de flavonóides em cera cuticular tem aumentado desde a década de 1980. Os flavonóides foram isolados e identificados do extrato clorofórmico obtido das folhas, como sendo: 3',4'-di-hidroxi-5,6,7-trimetoxiflavona [19], 5,3',4'-tri-hidroxi-6,7-dimetoxiflavona ou cirsiol [20], 3',4'-di-hidroxi-6,7-dimetoxiflavona ou cirsimarina [21] e 6,4,4'-tri-hidroxi-5-metoxiflavona ou hispidulina [22] (Figura 10, Pág. 33). Além do isolamento desses flavonóides foi avaliada a atividade antifúngica do extrato clorofórmico, utilizando o fungo *Cladosporium sphaerospermum*.

Espécies do gênero *Fridericia* (*Arrabideae*) têm sido amplamente utilizadas na medicina tradicional como anti-inflamatório, antitumoral, antimicrobiano, antioxidante e adstringente (ZORN, et al. 2001). Estudos realizados por Rocha, et al (2011) em ratos e camundongos corroboraram com os usos tradicionais. Neste trabalho os autores usaram o extrato etanólico das raízes, e analisaram a atividade anti-inflamatória e antinociceptiva. Os resultados revelaram resposta anti-inflamatória em ratos e antinociceptiva em camundongos.

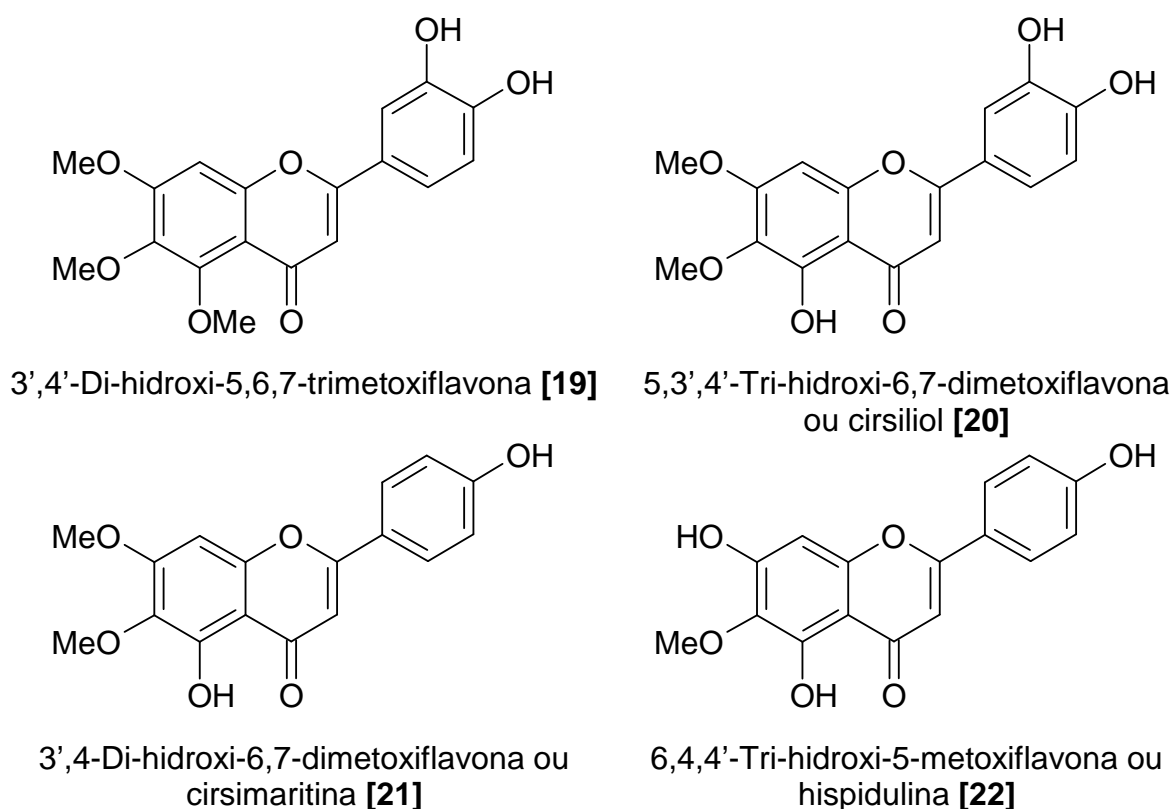


Figura 10 – Flavonoides isolados da cera epicuticular de *F. brachypoda* (*A. brachypoda*)

2.7 *Fridericia florida* (A. DC.) LG Lohmann

A espécie *Fridericia florida* (*A. florida*) é uma liana, com ramos cilindros castanhos. Folhas opostas, compostas com 2-3 folíolos (Figura 11, Pág 34). Tuffi et al. (2013), em estudo da variação florística e estrutura fitossociológica em função do relevo e da sazonalidade de plantas daninhas em Minas Gerais, verificou a presença da espécie em todas as áreas avaliações. Os estudos encontrados na literatura científica, sobre esta planta, compreendem o conhecimento de sua florística e de sua distribuição territorial, visto que esta é uma planta daninha interferindo na agropecuária. (TUFFI, et al., 2013; INOUE, et al., 2012; UDULUTSCH, et al., 2010). A planta é conhecida pelo nome popular: cipó neve (INOUE, et al., 2012)

Santos et al. (2009) em estudo florísticos de diferentes famílias no Sudeste do Brasil, verificou que a família com maior ocorrência de espécies foi a Bignoniaceae, dentre as espécies encontradas em São José do Rio Preto, Vassununga e Ribeirão Cachoeira foi registrada a espécie *F. florida* (*A. florida*).

Outro estudo sobre distribuição e crescimento de lianas, verificou a presença desta espécie na ilha Barro Colorado no Panamá (SCHNITZER et al., 2012).



Figura 11 - Aspecto morfológico das flores e das folhas de *F. florida* (*A. florida*)

Fonte <http://darwin.bangor.ac.uk/flora.html>

2.8 *Fridericia patellifera* (Schltdl.) L.G. Lohmann

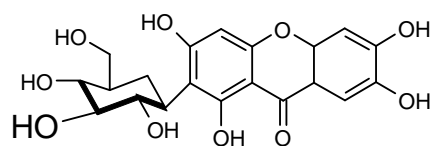
A espécie *F. patellifera* (*A. patellifera*) é uma liana com distribuição do México ao Brasil. Possui ramos cilíndricos, com folhas simples e bifoliadas e com inflorescência terminal ou axial (Figura 12, Pág. 35)



Figura 12 - Aspecto morfológico das folhas e das flores de *F. patellifera* (*A. patellifera*)

Fonte: <http://darwin.bangor.ac.uk/flora.html>

A investigação fitoquímica do extrato metanólico das folhas de *F. patellifera* (*A. patellifera*) possibilitou o isolamento de 7 (sete) compostos poucos freqüentes na família Bignoniaceae: Mangiferina [23], 3'-*O-trans*-Coumaroilmangiferina [24], 3'-*O-trans*-Cinnamoilmangiferina [25], 3'-*O-trans*-Caffeoilmangiferina [26], 6'-*O-trans*-Coumaroilmangiferina [27], 3'-*O-p*-Hidroxibenzoilmangiferina [28] e 3'-*O-p*-Benzoilmangiferina [29] (Figura 13, Pág. 36). Todas as substâncias isoladas apresentaram atividade antioxidante. Esses compostos foram também testados *in vitro* contra o protozoário *Plasmodium falciparum*, agente etiológico da malária, apresentando relativa atividade frente a este patógeno (MARTIN, et al., 2008).



Mangiferina [23]

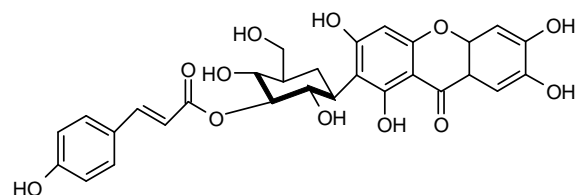
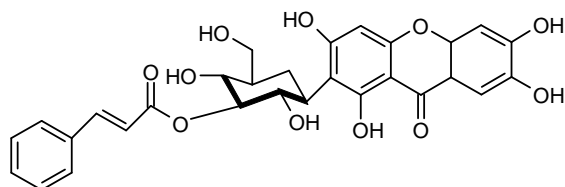
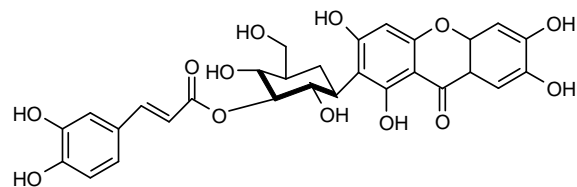
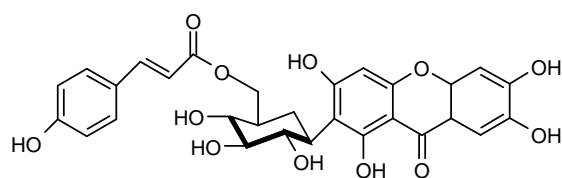
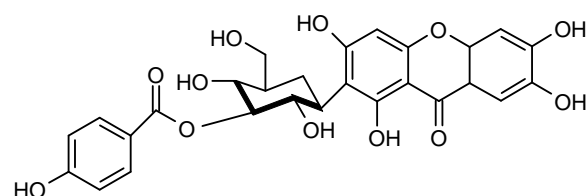
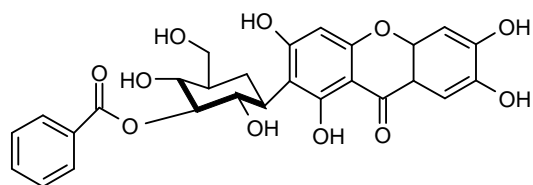
3'-O-*trans*-Coumaroil-mangiferina [24]3'-O-*trans*-Cinnamoil-mangiferina [25]3'-O-*trans*-Caffeoil-mangiferina [26]6'-O-*trans*-Coumaroil-mangiferina [27]3'-O-*p*-Hydroxibenzoil-mangiferina [28]3'-O-*p*-Benzoil-mangiferina [29]

Figura 13 - Xantonas isoladas das folhas de *F. patellifera* (*A. patellifera*) com atividade antioxidante e antiparasitária

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta das Espécies Botânicas

As espécies vegetais foram coletadas no mês de dezembro de 2012, no Parque Zoobotânico (PZ) da Universidade Federal do Acre (UFAC), localizado no município de Rio Branco, Estado do Acre, Brasil. Foram obtidas as exsiccatas *in loco* e depositadas no Herbário do Parque Zoobotânico e identificadas por botânico do próprio herbário. As exsiccatas depositadas neste herbário foram registradas sobre os seguintes números: *Fridericia chica* (n. 1702), *Fridericia brachipoda* (n. 590), *Fridericia patellifera* (n. 2086) e *Fridericia florida* (n. 11894).

3.2 Preparação das Amostras Botânicas

As folhas frescas das quatro espécies foram separadas manualmente das partes lenhosas e secadas, separadamente à temperatura de 40 °C, em estufa de circulação de ar forçado, no Laboratório da Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTAL) da Universidade Federal do Acre. As folhas foram secadas por 24 (vinte e quatro) horas, sendo em seguida trituradas em moinho de aço inox e armazenadas em saco plástico. O material triturado foi levado ao laboratório de Plantas Medicinais do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza da UFAC, para a obtenção dos extratos.

3.3 Preparação do Extrato Hidroalcoólico

Os extratos hidroalcoólicos (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) foram preparados conforme metodologia estabelecida por Mattos (1988). O material vegetal triturado foi transferido para um Erlenmeyer, onde foi completado com o solvente extrator

hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) até a completa submersão do material. A extração foi procedida em recipiente fechado por 72 (setenta e duas) horas à temperatura ambiente. Ao final, o extrato foi filtrado, utilizando inicialmente uma filtração simples com algodão e depois sobre papel filtro. O processo de extração foi repetido por 3 (três) vezes. Os extratos obtidos foram concentrados em evaporador rotativo sob pressão reduzida e, posteriormente levado à estufa com circulação de ar forçado a 40 °C, até completa secagem. Após esse processo de secagem dos extratos, foi determinado o rendimento de extração. Os extratos obtidos foram mantidos sob refrigeração até a realização dos ensaios fitoquímicos e biológicos.

3.4 Prospecção Fitoquímica do Extrato Hidroalcoólico

As análises de prospecção fitoquímica visaram à caracterização qualitativa dos principais grupos químicos que representam os princípios ativos das drogas vegetais. As análises foram realizadas no laboratório de Plantas Medicinais do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza da UFAC, conforme metodologia de Barbosa et al. (2004) e Matos (1988). Foram preparadas duas frações do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH): fração aquosa (FA) e a fração metanólica (FM). A presença dos grupos metabólitos secundários se caracterizou pela utilização de reações de coloração ou de precipitação características desses grupos.

3.4.1 Preparação da Fração Aquosa do Extrato Hidroalcoólico

A fração aquosa (FA) foi preparada com 500 mg. do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) em 100 mL de água destilada. A mistura foi solubilizada em sonificador e em seguida foi filtrada usando filtração simples com papel filtro. A fração aquosa (FA) depois de preparada foi armazenada em frasco âmbar e mantida em ambiente refrigerado.

3.4.1.1 Testes para fenóis e taninos

A identificação dos fenóis e taninos foi realizada utilizando dois tubos de ensaio numerados. No primeiro foram adicionados 5 mL da fração aquosa (FA) e no segundo 5 mL de água destilada (ensaio branco). Posteriormente foi adicionado 3 (três) gotas de solução alcoólica de FeCl_3 (cloreto férrico) a 1% (um por cento) em cada tubo de ensaio. Após agitação foi observado a mudança na coloração ou formação de precipitado abundante, sempre comparando com o teste em branco (água + FeCl_3). A presença de:

- Coloração entre o azul e o vermelho é indicativo de presença de fenóis, quando o teste em branco for negativo;
- Precipitado de tonalidade azul indica a presença de taninos pirogálicos (taninos hidrolisáveis);
- Precipitado de tonalidade verde indica a presença de taninos flobabênicos (taninos condensados ou catéquicos).

3.4.1.2 Teste para saponinas

A pesquisa de saponinas foi realizada usando uma alíquota de 5 mL da fração aquosa (FA), em um tubo de ensaio. Em seguida foram adicionados 15 mL de água destilada e agitada vigorosamente durante 2 (dois) minutos, com o tubo de ensaio fechado. A formação de uma camada de espuma permanecendo estável por mais de 30 (trinta) minutos é considerado positivo para saponinas (heterósides saponínicos).

3.4.1.3 Teste para confirmação de saponinas

A confirmação de saponinas foi realizada utilizando 2 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado ao conteúdo do tubo de ensaio onde foi realizado o teste de saponinas. Após a adição do ácido, deixar pelo menos 60 (sessenta) minutos imerso em banho-maria. Retirar e deixar esfriar e em seguida neutralizar com hidróxido de sódio (NaOH) a 6 Mol L⁻¹, usando gota a gota, até pH neutro. A presença de precipitado e a não formação de espuma confirma a presença de saponinas.

3.4.1.4 Testes para ácidos orgânicos

A identificação dos ácidos orgânicos foi realizada utilizando uma alíquota de 2 mL da fração aquosa (FA) em um tubo de ensaio. Posteriormente, foram adicionadas 18 (dezoito) gotas do reativo de Pascová A e em seguida 2 (duas) gotas do reativo de Pascová B. A descoloração do reativo representa reação positiva para ácidos orgânicos. O reativo de Pascová A foi preparado usando 0,075 g de verde de bromocresol mais 0,25 g de azul de bromofenol dissolvidos em etanol até completar a solução de 100 mL. Enquanto o reativo de Pascová B foi preparado uma solução aquosa, dissolvendo 0,25 g de permanganato de potássio (KMnO₄), mais 0,25 g de carbonato de sódio (Na₂CO₃) até completar 100 mL de solução.

3.4.2 Preparação da Fração Metanólica do Extrato Hidroalcoólico

A fração metanólica (FM) foi preparada com 500 mg do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) em 100 mL de metanol. A mistura foi solubilizada em sonicador e em seguida foi filtrada usando filtração simples com

papel filtro. A fração metanólica (FM) depois de preparada foi armazenada em frasco âmbar e mantida em ambiente refrigerado

3.4.2.1 Teste para a classe geral de flavonoides

A pesquisa de flavonoides foi realizada conforme a reação de Shinoda ou reação de cianidina. Em um tubo de ensaio foi adicionado 10 mL de fração metanólica (FM), em seguida foi acrescentado 5 (cinco) gotas de ácido clorídrico (HCl) concentrado e raspas de Magnésio. O surgimento de uma coloração rósea na solução indica reação positiva de flavonóides.

3.4.2.2 Teste para sesquiterpenolactonas e outras lactonas

A identificação qualitativa de sesquiterpenolactonas e demais lactonas foi realizada com uma alíquota de 3 mL da fração metanólica (FM) em um tubo de ensaio. Ao tubo de ensaio foram adicionados 12 (doze) gotas de solução alcoólica de cloridrato de hidroxilamina ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$) a 10% (dez por cento) e duas gotas de solução metanólica de hidróxido de potássio (KOH) a 10% (dez por cento). A mistura reacional foi aquecida suavemente em banho-maria por 2 (dois) minutos. Em seguida foi esfriada e acidificada com solução de ácido clorídrico (HCl) a $1,0 \text{ Mol L}^{-1}$. Depois de acidificar, foi adicionado uma gota de cloreto férrico (FeCl_3) a 1% (um por cento). O aparecimento de coloração violeta indica reação positiva para sesquiterpenolactonas e outras lactonas.

3.4.3 Teste para Alcaloides

A pesquisa para alcaloides foi realizada usando os reativos característicos para identificação de alcalóides: reativo de Bouchardat, reativo de Dragendorff e

reativo de Mayer. Foi dissolvido 25 mg de extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) em 5 mL de ácido clorídrico (HCl) a 5% (cinco por cento). Por filtração simples, foi separado em quatro tubos de ensaio, porções de 1 mL do extrato acidificado. Em seguida foi adicionado gotas de reagente de Bouchardat, reagente de Dragendorff e do reagente de Mayer, do primeiro ao terceiro tubo de ensaio, respectivamente, mantendo o quarto tubo como branco. A presença de alcalóides ocorre com a formação de precipitado com a seguinte coloração:

Reativo de Bouchardat precipitado laranja avermelhado;

Reativo de Dragendorff precipitado vermelho tijolo e;

Reativo de Mayer precipitado branco.

O reagente de Wagner Bouchardat foi preparado pela dissolução de 4 g de iodeto de potássio (KI) e 2 g de iodo ressublimado, até completar 100 mL de solução aquosa. O reagente de Dragendorff foi preparado dissolvendo, em um banho de gelo, 5 g de carbonato de bismuto [Bi₂(CO₃)₃] em 50 mL de água destilada. Em seguida foi adicionado cuidadosamente 12 mL de ácido clorídrico (HCl) concentrado. Posteriormente foi acrescentado gradativamente 25 g de iodeto de potássio (KI). Após completa dissolução, o volume foi completado para 100 mL com água destilada.

O reagente de Mayer foi preparado usando duas soluções: A solução A foi preparada pela dissolução de 1,36 g de cloreto de mercúrico (HgCl₂) em 60 mL de água destilada. A solução B foi preparada dissolvendo 5 g de iodeto de potássio (KI) em 20 mL de água destilada. As duas soluções foram adicionadas e diluídas com água até 100 mL de solução final.

O reagente de Dragendorff foi preparado usando duas soluções: A solução A foi preparada dissolvendo 8 g de subnitrito de bismuto (BiONO₃.H₂O) em 20 mL de ácido acético. A solução B foi preparada dissolvendo 27,2 g de iodeto de potássio (KI) em 50 mL de água destilada. A preparação final foi realizada pela dissolução, aos poucos, da solução A sobre a solução B.

3.5 Determinação Quantitativa

Os testes para determinação de Fenóis Totais e Flavonóides foram realizados no Laboratório de Farmacologia de Produtos Naturais da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Amazonas - UFAM, e a determinação de Antocianina no Laboratório de Plantas Medicinais do Centro de Ciências Biológicas e da Natureza da UFAC.

3.5.1 Determinação do Teor de Fenóis Totais (T.F.T.)

O teor de fenóis totais foi quantificado através da redução do Reagente de Folin-Denis pelos compostos fenólicos presente nas amostras (WATERMAN; MOLE, 1994, apud YARIWAKE 2005) com adaptações. Os fenóis foram obtidos por extração em maceração a temperatura ambiente, utilizando 2 g do material em 100 mL do extrator hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH). Após a extração e filtração do extrato, a solução foi completada a 100 mL, com o mesmo solvente hidrofílico. Inicialmente foram adicionados nos poços de uma microplaca 10 µL do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH). Em seguida, foi adicionado 50 µL da solução de Folin-Denis (1:10). Como padrão foi utilizado o ácido gálico 10 mg mL⁻¹, diluído em Dimetilsulfoxido (DMSO) 1:10, foram adicionados no poço da microplaca 10 µL do padrão, a este foram adicionados 50 µL da solução de Folin-Denis. A microplaca foi incubada por 8 minutos e após este intervalo foram adicionados 240 µL de carbonato de sódio a 0,4% (zero vírgula quatro por cento) nos poços dos testes e do padrão, permanecendo por mais 3 (três) minutos em repouso. Terminado o último intervalo a leitura da absorbância foi realizada em equipamento Beckman Coulter, modelo DTX 800 Multicode, com o detector ajustado em absorbância de 620 nm. As análises foram realizadas em triplicata e o resultado foi obtido pela média das absorbâncias.

$$\text{T.F.T.} = \frac{\text{Abs da Amostra} \times 100}{\text{Abs. do Padrão}} \quad (1)$$

Onde:

T.F.T. = Teor de Fenóis Totais

Abs. = Absorbância medida a 620 nm.

3.5.2 Determinação do Teor de Flavonoides Totais (T.F.T.)

A quantificação dos flavonóides foi realizada conforme o descrito por Zhishen, Jianming (1999) com adaptações. A extração dos flavonóides foi realizada utilizando 2 g de folhas trituradas e 100 mL de solução hidroalcoólica (EtOH:H₂O, 7:3) (EH). Após a extração e filtração do extrato, a solução foi completada a 100 mL, com o mesmo solvente hidrofílico. Foram adicionados nos poços de uma microplaca 30 µL do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH), 90 µL de etanol, 6 µL de cloreto de alumínio a 10% (dez por cento) e 6 µL de acetato de potássio 1 Mol L⁻¹. Finalmente foram adicionados 168 µL de etanol completando 300 µL de solução. Em poço distinto, foram adicionadas 30 µL de quercetina que foi utilizada como padrão, onde foram adicionados os mesmos substratos reacionais utilizados para os extratos. Em seguida, o meio reacional foi incubado por 30 (trinta) minutos à temperatura ambiente. Após este intervalo foi realizado a leitura em equipamento Beckman Coulter, modelo DTX 800 Multicode. O detector ajustado em absorbância de 510 nm. As análises foram realizadas em triplicata e o resultado foi obtido pela média das absorbâncias.

$$\text{T.F.T.} = \frac{\text{Abs da Amostra} \times 100}{\text{Abs. do Padrão}} \quad (2)$$

Onde:

T.F.T. = Teor de Flavonoides Totais

Abs. = Absorbância medida a 510 nm.

3.5.3 Determinação do Teor de Antocianinas Totais (T.A.T.)

A quantificação do teor de antocianinas totais foi realizada segundo metodologia de Francis (1982, apud TEIXEIRA, et al., 2008). A extração das antocianinas foi realizada utilizando 1 g de amostra de folhas trituradas. As amostras foram submetidas a extração com 100 mL de uma solução de etanol a 95% (noventa e cinco por cento) acidificada com ácido clorídrico a 1,5 Mol L⁻¹ na proporção de 85:15. A mistura foi armazenada em Erlenmeyer, enrolados com folha de alumínio, e mantido em Freezer por 16 horas. A extração foi realizada em triplicata e a leitura da absorbância foi feita a 535 nm, tendo como branco a solução extratora. As medidas foram obtidas em espectrofotômetro marca Shimadzu®, modelo UV-VIS 1800. Os resultados foram expressos em mg de antocianinas totais por 100 g da amostra. Foi utilizado o coeficiente de extinção molar (E^{1%_{1cm}}) de 982 e o cálculo do teor de antocianinas determinado de acordo com a fórmula (3), conforme Teixeira et al., (2008), com adaptações.

$$\text{Ant (mg) } 100 \text{ g}^{-1} = \frac{\text{Abs da Amostra} \times V_{\text{ext.}}}{m \times E_{\text{cm}}^{1\%}} \times 1000 \quad (3)$$

Onde:

Abs = Absorbância da amostra medida a 535 nm

V_{ext} = Volume do extrato

m = Massa em grama da amostra

E_{cm} = Coeficiente de Extinção, valor usado 982

3.6 Avaliação da Atividade Antimicrobiana

Na avaliação da atividade antimicrobiana foram utilizadas bactérias gram-positivas e gram-negativas. Os extratos foram avaliados sua eficácia frente aos microrganismos: *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538P), *Staphylococcus*

saprophyticus (ATCC 15305), *Escherichia coli* (ATCC 10536), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442), doados pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), Laboratório de Micro-Organismos de Referência da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), com sede no Rio de Janeiro.

A avaliação da atividade antimicrobiana foi realizada de acordo com o estabelecido pelo NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) e foram realizados no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia da UFAM.

3.6.1 Preparação dos Inóculos

Os microrganismos liofilizados foram ativados em caldo Triptona Soja (TSB) e incubados por 24 (vinte e quatro) horas a 37° C. Após a incubação as cepas foram semeadas em tubo de ensaio com meio de cultura invertido Muller Hinton por 24 (vinte e quatro) horas a 37° C. Posteriormente, as cepas foram então semeadas em placa de Petri com meio de cultura Ágar Muller Hinton e novamente incubou-se por 24 (vinte e quatro) a 37° C.

A partir das colônias originadas na placa de Petri foi preparada a suspensão de bactérias (inóculo) em tubos de ensaio contendo caldo triptona de soja (TSB). A turbidez dos tubos foi ajustada com a escala 0,5 (zero vírgula cinco) de MacFarland que apresenta aproximadamente $1,5 \times 10^8$ células mL⁻¹, por meio de medida em espectrofotômetro em leitura com comprimento de onda de 530 nm. Este procedimento foi necessário para garantir que as semeaduras nas placas terão aproximadamente o mesmo número de células.

3.6.2 Preparação dos Extratos

Foram utilizados dois tipos de extratos para cada espécie, com base nos extratos preconizados para análise fitoquímica, sendo um extrato clorofórmico e outro metanólico. Os extratos clorofórmio e metanólico foram preparados em um

béquer de 10 mL usando 500 mg de extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) que foi dissolvido com 5 mL de cada solvente (clorofórmio e metanol), obtendo no final uma solução de 100 mg mL⁻¹.

3.6.3 Atividade Antimicrobiana

A atividade antimicrobiana foi avaliada testando os extratos frente aos microrganismos, realizada por meio do teste de difusão em disco no meio ágar. O inóculo foi semeado em placas de Petri contendo Ágar Muller Hinton. Com auxílio de um swab estéril, foi semeado em quatro direções, assegurando que a suspensão de bactérias fosse distribuída de forma uniforme por toda a placa de Petri. Após 5 (cinco) minutos, para fixação da suspensão ao meio, foi adicionado discos de papel de filtro estéril impregnados com 10 µL dos extratos (0,1 mg µL⁻¹) e dos solventes. Como controle positivo foi utilizado discos de antibiograma de Amoxicilina para as bactérias gram-positivas (gênero *Staphylococcus*) e Norfloxacin para bactérias gram-negativas (*E. coli* e *Pseudomonas aeruginosa*).

As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C, após a incubação as placas foram analisadas para verificação da formação dos halos de inibição.

A sensibilidade do microrganismo foi medida a partir do diâmetro do halo de inibição, sendo esta medida realizada com auxílio de um paquímetro digital Digimess®.

3.7 Avaliação da Atividade Farmacológica

Os experimentos e abordagens farmacológicas foram conduzidas de acordo com normas e técnicas adotadas pelos comitês de ética do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica – LTF da Universidade Federal da Paraíba – UFPB e do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará – UECE.

Os animais utilizados, camundongos Swiss albinos foram reproduzidos no biotério do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento – MAPA, mantidos no laboratório de Fisiofarmacologia da Universidade Federal do Acre – UFAC.

3.7.1 Toxicidade Aguda – Dose Única

A toxicidade aguda foi avaliada em 2 (dois) grupos de camundongos com pesos entre 24 e 40 gramas, de ambos os sexos. Ao primeiro grupo foi administrada a dose de 500 mg Kg⁻¹ de peso e ao segundo grupo a dose de 1000 mg Kg⁻¹ de peso.

Os grupos foram observados durante uma semana. Durante o período foi disponibilizada água e ração *ad libitum*. Os animais foram observados do ponto de vista clínico e comportamental: sedação, agitação, alteração motora, modificação nas fezes e urina e na ingestão da dieta, prurido, hemorragias e morte.

3.7.2 Medida do Desempenho Motor – Teste do Rota Rod

A fim de avaliar possíveis efeitos musculares ou sedativos, foi avaliado o desempenho motor de camundongos no teste de Rota Rod (ROSLAND et al., 1990). O aparelho Rota Rod Insight ®, consiste de um cilindro de 2,5 cm de diâmetro, subdividido em quatro compartimentos. O cilindro gira a uma velocidade constante de 22 rpm (vinte e duas rotações por minuto). Os animais foram treinados e selecionados em rotações mais baixas até atingir a frequência desejada com 24 (vinte e quatro) horas de antecedência. Foram aceitos somente aqueles animais que permaneceram sobre o cilindro dois períodos de 60 (sessenta) segundos.

Os animais selecionados foram divididos em 2 (dois) grupos contendo 6 (seis) indivíduos cada, estes foram colocados no equipamento e o tempo de permanência anotado. Após o tempo ser anotado foi administrado por gavagem os extratos hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH). O primeiro grupo recebeu a dose de

20 mg Kg⁻¹ e o segundo de 100 mg Kg⁻¹. Após 60 (Sessenta) minutos decorridos da administração dos extratos, os animais foram recolocados no Rota Rod e os tempos de permanência foram anotados, bem como observado o seu desempenho motor.

3.7.3 Avaliação da Atividade Analgésica

A avaliação da atividade analgésica pelo teste das contorções abdominais induzidas por ácido acético (Writhing test) foi realizada utilizando camundongos Swiss albinos, do laboratório de Fisiofarmacologia da Universidade Federal do Acre (Figura 14). Os animais foram submetidos a jejum de 24 (vinte e quatro) horas com água *ad libitum*. Cada grupo utilizado nos testes foi composto por 6 (seis) animais (n = 6).



Figura 14 – Animal expressando uma contração abdominal característica

Os extratos foram preparados a partir do extrato bruto seco hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) solubilizados em água destilada.

Foram selecionados 3 (três) grupos de camundongos, machos, com peso médio de 30 g. Ao grupo 1 (um) foi administrado o extrato das plantas na concentração de 20 mg Kg⁻¹ de peso, ao grupo 2 (dois) foi administrado extrato na concentração de 100 mg Kg⁻¹ de peso, ao grupo 3 denominado controle negativo

foi administrado água destilada (volume idêntico ao do extrato), todos por gavagem.

Após uma hora dos tratamentos, foi injetado via intraperitoneal uma solução aquosa de ácido acético a 0,8% (zero vírgula oito por cento). Decorrido 10 (dez) minutos da administração foi iniciada a contagem do número de contorções abdominais até o tempo de 30 (trinta) minutos.

3.7.4 Avaliação da Atividade Antinociceptiva pelo Teste da Placa Quente

Para a análise da possível atividade antinociceptiva, foram selecionados 4 (quatro) grupos de camundongos machos, com peso entre 20 e 30 gramas (Figura 15). Ao grupo 1 (um), foi administrado extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) das plantas na concentração de 20 mg Kg⁻¹ de peso, ao grupo 2 (dois) foi administrado extrato das plantas na concentração de 100 mg Kg⁻¹ de peso e o grupo 3 (três) denominado controle negativo recebeu apenas água destilada no mesmo volume dos extratos e ao grupo 4 (quatro) denominado grupo controle positivo, foi administrado via intraperitoneal 5 mg Kg⁻¹ de peso de Morfina (0,2 mg mL⁻¹ Dimorf® - Cristália).



Figura 15 – Placa quente utilizada no teste da termnocicepção

Decorridos 60 (sessenta) minutos dos tratamentos, os animais foram colocados individualmente em uma placa quente (55 ± 5 °C). De acordo com Woolfe, MacDonald (1944) citado por Lapa, Lima (2001) o tempo de reação do animal ao estímulo térmico caracteriza-se pelo comportamento de levantar ou lamber as patas, considerado indicativo de efeito nociceptivo. O tempo de permanência foi anotado quando cada animal apresentou resposta ao estímulo térmico.

O tempo máximo de permanência do animal na placa foi de 30 (trinta) segundos. O equipamento utilizado para este teste foi a Hot Plate da marca Insight®.

3.7.5 Teste da Atividade Antiedematogênica

A atividade antiedematogênica foi estudada através do modelo de edema de pata induzido por agentes flogísticos. A medida foi estudada através da variação do volume de pata, após a indução do edema, através do aparelho pletismômetro, Digital Plethysmometer LE, modelo 7500, que se baseia no deslocamento do volume do líquido, pela introdução da pata do animal até o maléolo lateral (WINTER et al., 1962).

O edema foi induzido por carragenina em dois grupos de 6 (seis) animais camundongos Swiss albinos. Extratos hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) nas concentrações de 20 e 100 mg Kg⁻¹ de peso de extratos da plantas foram administrados 60 (sessenta) minutos antes da indução do edema. Os animais receberam injeção de 50 µL de carragenina Sigma®, 10 mg mL⁻¹ na região subplantar da pata traseira direita. Após a injeção, o volume da pata foi determinado nos tempos 60 (sessenta) e 120 (cento e vinte) e 180 (cento e oitenta) minutos. Como controle positivo foi utilizado um grupo de 6 (seis) animais, camundongos Swiss albinos, aos quais foi administrado indometacina na dose de 10 mg Kg⁻¹ estes foram submetidos ao mesmo processo de indução do edema dos grupos teste. Ao controle denominado positivo foi administrada água destilada no mesmo volume dos extratos.

3.8 Análise Estatística dos Dados

Os resultados foram tratados estatisticamente. As médias comparadas pelo Teste t de Student e a ANOVA aplicada nas análises multivariadas, ambos componentes do software GraphPad Prism[®], considerando significativos, valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimento dos Extratos

Foram utilizados extratos hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) das folhas de: *Fridericia chica* (Humb. e Bonpl.) Verl, *Fridericia brachypoda* (DC.) Bureau, *Fridericia florida* (A. DC.) LG Lohmann e *Fridericia patellifera* (Schltdl.) L.G. Lohmann (Tabela 1). Foi realizada três extrações sucessivas de 72 horas por maceração à temperatura ambiente. O rendimento porcentual de extração foi determinado após o processo de secagem total da unidade realizada em estufa de circulação de ar forçado a 40°C. A espécie que apresentou o maior rendimento de extrato foi a *F. patellifera* com 11,54%, seguida da *F. brachypoda* com 8,56% (Tabela 1).

Tabela 1 – Rendimento dos extratos hidroalcoólico obtidos das folhas das espécies de *Fridericia*

Espécies	Massa das folhas(g)	Massa dos Extratos(g)	Rendimento m/m%
<i>Fridericia chica</i> (Humb. e Bonpl.) Verl	250	16,9495	6,78
<i>Fridericia brachypoda</i> (DC.) Bureau	205	17,5620	8,56
<i>Fridericia florida</i> (A. DC.) LG Lohmann	224	14,5508	6,49
<i>Fridericia patellifera</i> (Schltdl.) L.G. Lohmann	222	25,6132	11,54

4.2 Análise Fitoquímica Qualitativa

A espécie *Fridericia chica* representa uma das plantas integrantes da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (RENISUS), sendo também largamente empregada na prática popular para diversas enfermidades. Dois trabalhos publicados na literatura apresentaram a

prospecção química dessa espécie (BARBOSA et al., 2008, ALVES et al., 2010) e vários outros realizaram pesquisa com a finalidade de isolamento, identificando principalmente antocianinas e flavonas, além de estudos de propriedade biológicas e microbiológicas. As demais espécies apresentaram poucos trabalhos publicados na literatura especializada. A espécie *F. patellifera* com o trabalho de isolamento realizado por Martin et al. (2008), *Fridericia brachypoda* com os trabalhos de Alcerito et al. (2002) e *Fridericia florida* não foi registrado na literatura especializada trabalho de prospecção ou de isolamento dos constituintes químicos.

Os ensaios de prospecção fitoquímica foram realizados utilizando um único extrato hidrofílico, o extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH), para as quatro espécies. A partir do extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) foi obtido duas frações utilizando água e metanol, denominados de fração aquosa (FA) e fração metanólica (FM). A pesquisa qualitativa foi realizada com a finalidade de identificar a presença ou ausência dos principais grupos metabólitos: Ácidos Orgânicos, Alcalóides, Compostos Fenólicos, Flavonóides, Fenóis e Taninos, Saponinas, Sesquiterpenolactonas e outras lactonas (Tabela 2).

Tabela 2 – Resultados da prospecção fitoquímica qualitativa das folhas das espécies *Fridericia*

Metabólitos Pesquisados	F. chica			F. brachypoda			F. florida			F. patellifera		
	FA	FM	EH	FA	FM	EH	FA	FM	EH	FA	FM	EH
Ácidos Orgânicos	-			-			-			-		
Alcalóides			-			-			-			-
Fenóis	+			++			++			+++		
Taninos pirogálicos	-			-			-			-		
Taninos flobabênicos	+			++			++			+++		
Flavonóides		++			+			++			+++	
Saponinas	+			++			-			+++		
Sesquiterpeno-lactonas		-			-			-			-	

FA = fração aquosa. FM = fração metanólica. EH = extrato hidroalcoólico.

Todas as espécies apresentaram resultados muito semelhantes, com pequenas diferenças na intensidade das colorações ou intensidade dos resultados, o que confirmaram as informações da literatura que indicaram a presença dos compostos analisados à família Bignoniaceae (Tabela 2).

A pesquisa de flavonóides, o resultado apresentou indefinido, ou seja, não houve o aparecimento evidente da coloração rósea que caracteriza a presença de flavonóides. Entretanto, pelo aumento da intensidade de cor das amostras foi possível caracterizar a presença de flavonóides (Figura 16).

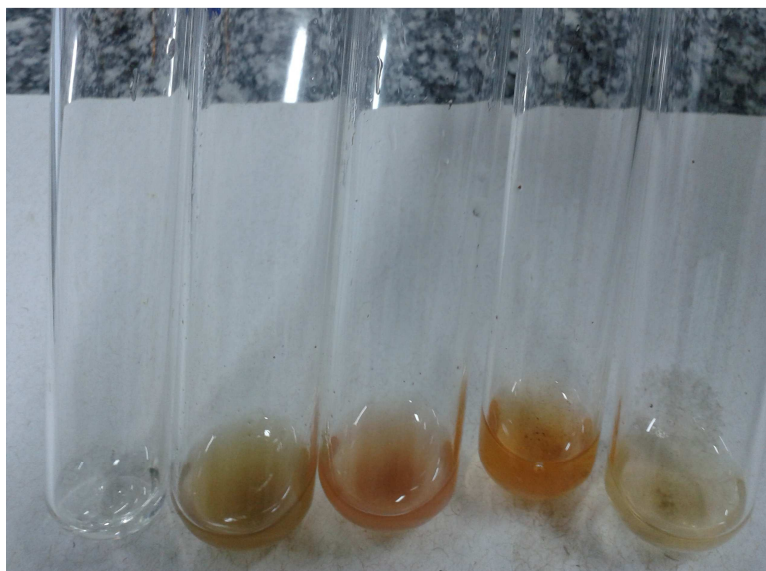


Figura 16 – Pesquisa de flavonóides da esquerda para direita: branco, *F. patellifera*, *F. florida*, *F. chica* e *F. brachypoda*

Os taninos são compostos fenólicos presente em plantas e sua concentração depende de vários fatores tais como tamanho e idade da planta, época e local de coleta da espécie (MONTEIRO et al. 2005). Para a pesquisa de fenóis e taninos a espécie *F. patellifera* apresentou uma alta intensidade de coloração indicando grande concentração desses metabolitos secundários (Figura 17, Pág. 56). A *F. chica* apresentou menor intensidade na coloração obtida, o que possivelmente venha indicar baixa concentração desse componente fitoquímico em relação as demais espécies analisadas (Figura 18, Pág. 56). Os taninos detectados correspondem a classe dos flobabênicos, também denominados taninos condensados ou catéquicos (Tabela 2, Pág. 54).

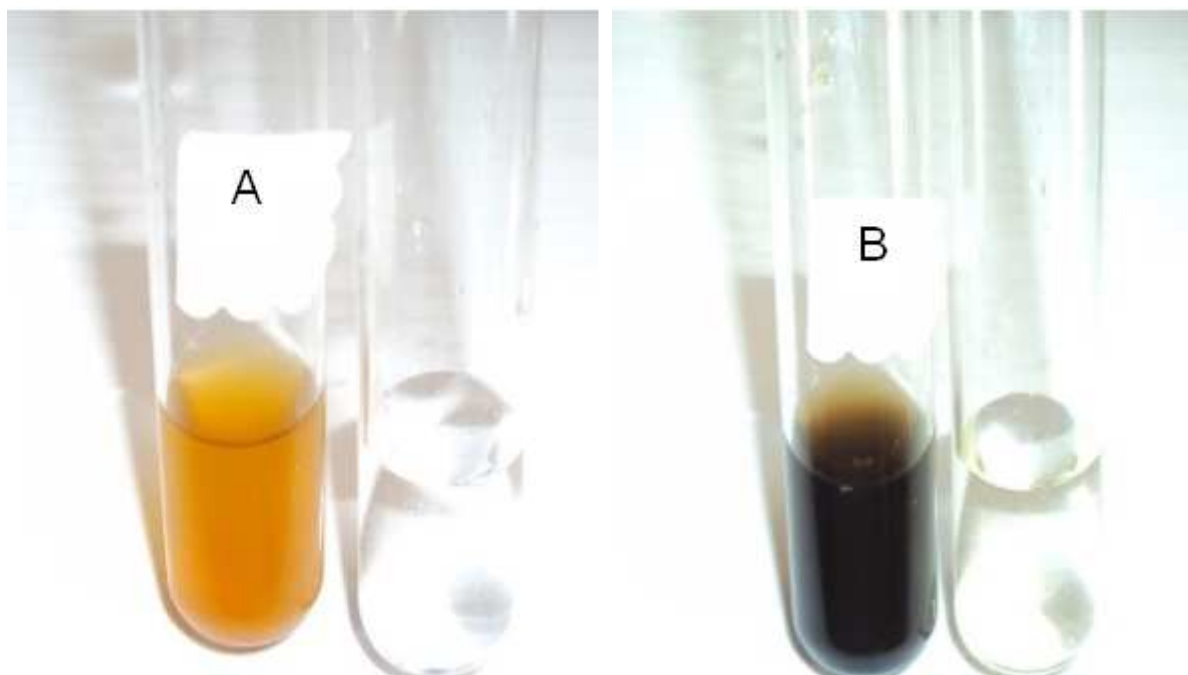


Figura 17 – Pesquisa de fenóis e taninos de *F. patellifera*: a esquerda (A) extrato e o branco, a direita (B) extrato mais reagente e o branco

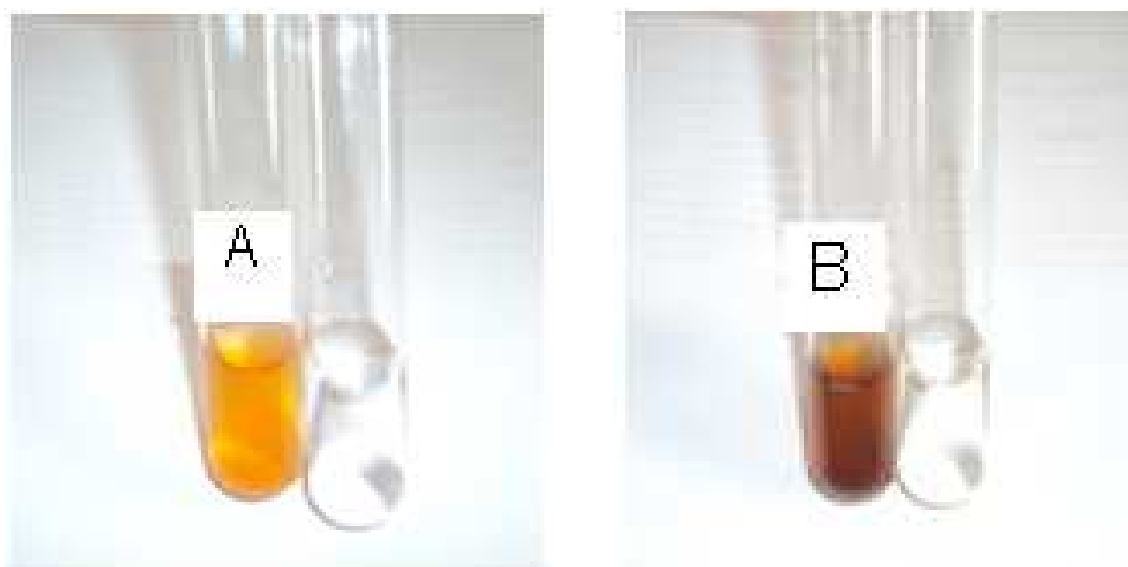


Figura 18– Pesquisa de fenóis e taninos da *F. chica*: a esquerda (A) extrato e o branco (A), a direita (B) extrato mais reagente e o branco.

As saponinas representam um grupo de metabólitos glicosídeos caracterizados pela formação de espumas. A espécie *F. florida* apresentou resultado negativo, *F. patellifera*, apresentou alta intensidade de espuma, enquanto que as espécies *F. brachypoda* apresentaram intensidade intermediária de espuma (Figuras 19 e 20, Pág. 57).

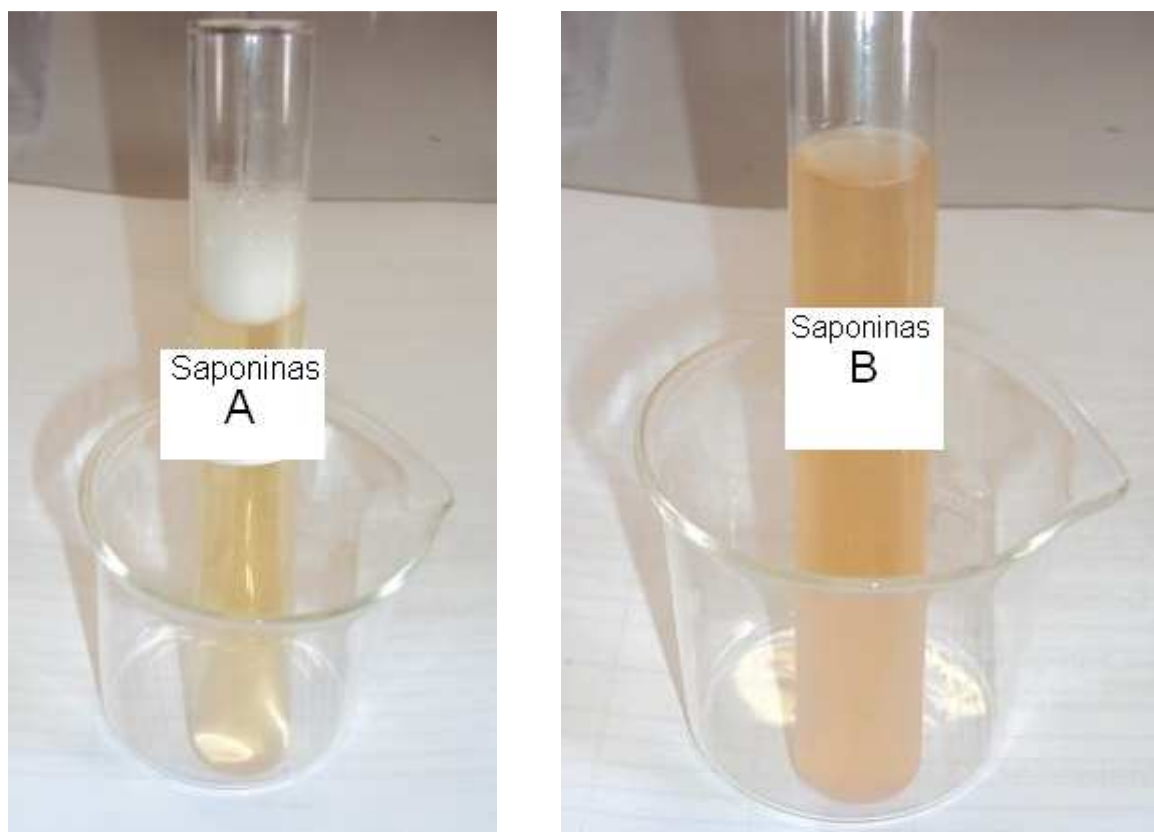


Figura 19 – Pesquisa de saponinas: esquerda *F. florida* (A) e a direita *F. brachypoda* (B)

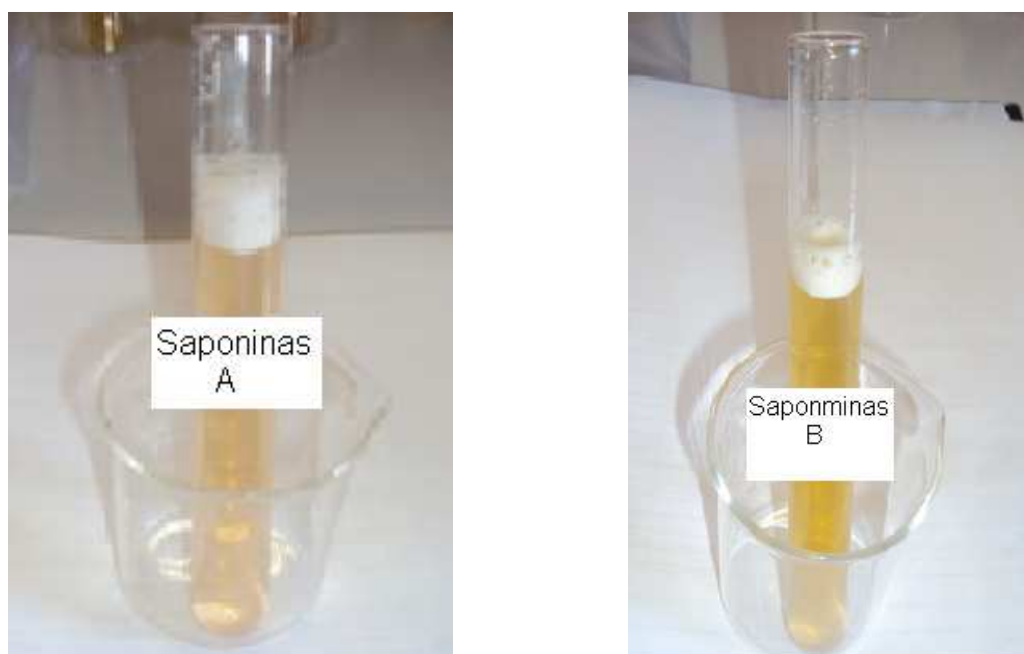


Figura 20 – Pesquisa de saponinas: a esquerda *F. brachypoda* (A) e a direita *F. patellifera* (B)

Os resultados das análises fitoquímicas, de modo geral, corroboraram com as informações encontradas na literatura. Harbone (1967) realizando estudo sobre

a bioquímica dos flavonóides mostrou que essa classe de composto está presente nas espécies da família Bignoniaceae. Outros estudos realizados por Scogin (1980) detectou e identificou antocianinas nesta família. Quando comparado os resultados das prospecções fitoquímicas obtidos das espécies em estudo do presente trabalho, mostraram que os metabólitos secundários identificados nas espécies correlacionam entre si e com os da família.

Alves et al., (2010) verificaram a presença de fenóis, antocianinas, antocianidinas, taninos catéquicos, saponinas na tintura da *F. chica*, o que corrobora com os resultados do presente estudo. Os autores também verificaram a presença de alcalóides, mas atribuíram o resultado a reação cruzada do reagente de Dragendorff com quinonas.

O único componente fitoquímico que divergiu em relação aos resultados divulgados na literatura foram os ácidos orgânicos que se apresentaram negativos neste trabalho e há menção na literatura de sua presença no extrato metanólico da *F. chica* (BARBOSA, 2008).

4.3 Análise Quantitativa dos Fitoquímicos

A análise qualitativa forneceu informações para a pesquisa quantitativa dos principais metabólitos secundários com possibilidades biológicas. Apesar da indefinição da análise qualitativa de flavonóides, contudo como na literatura tem revelado a presença marcantes desse grupo de composto na família, foi realizada sua quantificação. Além dos flavonóides foi também quantificado fenóis totais e antocianinas para as espécies em estudo. A quantificação dos fenóis foi realizada utilizando o reagente de Folin-Denis e como padrão o ácido gálico, para os flavonóides utilizou-se cloreto de alumínio e como padrão a quercetina (Figura 21, Pág. 59), enquanto que as antocianinas foram doseadas utilizando-se Francis (1982, apud TEIXEIRA et al., 2008). Os resultados das análises foram expressos em $\text{mg } 100\text{mL}^{-1}$ do extrato (Tabela 3, Pág. 59).

Tabela 3 - Resultados da quantificação de Flavonóides, Antocianinas e Fenóis.

Espécies	Fitoquímico Quantificado mg 100mL ⁻¹		
	Flavonóides*	Antocianinas**	Fenóis Totais*
<i>Fridericia chica</i>	21,17	136,79	33,33
<i>Fridericia brachypoda</i>	34,96	18,13	68,42
<i>Fridericia florida</i>	39,65	29,23	85,33
<i>Fridericia patellifera</i>	21,56	25,53	52,32

*Extrato: 2 g em 100 mL do solvente; **Extrato 1 g em 100 mL do solvente

**Figura 21** – Microplaca utilizada para quantificação de flavonóides.

4.4 Análise Microbiológica

Os resultados obtidos na análise microbiológica poderão ser ponto de partida para formulações farmacêuticas e até para o isolamento e síntese de novos fármacos, visto que as espécies são amplamente utilizadas na medicina popular.

A maioria dos estudos microbiológicos utiliza cepas de microrganismos causadores das infecções mais comuns, trato urinário, pele e intestinais. Bem como aqueles causadores de infecções hospitalares ou ainda os resistentes a

maioria dos antimicrobianos. Cepas como o *S. aureus*, *P. aeruginosa* e *E. coli* se enquadram nas características mencionadas.

Silva et al (2002), investigando a atividade antimicrobiana da *Mikania lanuginosa*, utilizou diferentes cepas, dentre elas *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. Lentz et al., (1998) estudaram 92 (noventa e dois) plantas utilizadas na medicina popular de Honduras, dentre os microrganismos utilizados para verificação da ação microbiológica estavam *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*.

Os flavonóides são conhecidos por serem sintetizados nas plantas em resposta a infecção microbiana. Característica que pode ser atribuída a sua ação antimicrobiana.

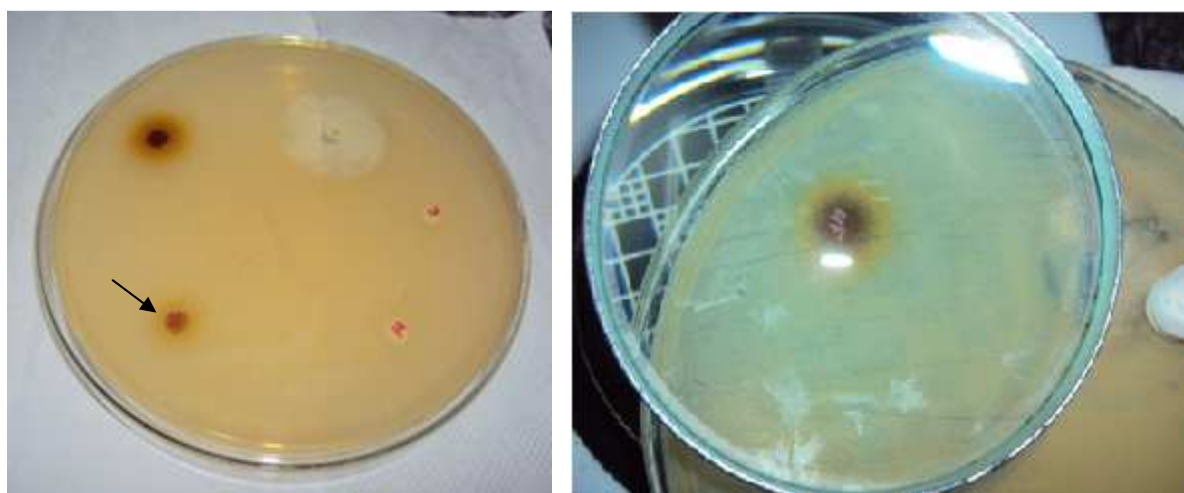
Em relação à concentração inibitória mínima, esta foi medida a partir do diâmetro do halo de inibição de crescimento bacteriano. Na literatura encontramos diferentes considerações sobre o diâmetro do halo em relação à sensibilidade microbiana. Em alguns trabalhos considerou sensível o aparecimento do halo, outros a sensibilidade do microrganismo foi relacionada à inibição do antimicrobiano utilizado como controle, sendo sensíveis as cepas que tiverem o crescimento igual ou superior ao controle, variando de sensível, moderadamente sensível e resiste (KARAMAN et al., 2003; OSTROSKY et al., 2008). Neste trabalho foi considerado sensível o halo de inibição igual ou superior a 1cm (um centímetro).

Tabela 4 - Resultados dos testes microbiológicos do Extrato clorofórmio

Espécies	Resultados em Halos (cm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Fridericia chica</i>	-	-	-	-
<i>Fridericia brachypoda</i>	-	-	-	-
<i>Fridericia florida</i>	-	-	-	-
<i>Fridericia patellifera</i>	-	-	-	-

S = *Staphylococcus*. E = *Escherichia*. P = *Pseudomonas*

Os extratos clorofórmicos das quatro espécies não inibiram o crescimento bacteriano, sendo assim os micro-organismos não foram sensíveis aos extratos na concentração testada $0,1 \text{ mg } \mu\text{L}^{-1}$ (Tabela 4, Pág. 60). Embora o extrato clorofórmico da *F. patellifera*, tenha apresentado fraca inibição (halo inferior a 1 cm) em uma das triplicatas para *S. aureus*, este foi considerado resistente ao extrato (Figura 22a). Este resultado pode estar associado à característica química do solvente ser apolar. Os compostos conhecidos como os responsáveis pelas atividades das espécies estudadas são de caráter polar, portanto o solvente não foi capaz de extrair esses componentes. Entretanto, vários metabólitos apolares apresentam potencial ação antimicrobiana, como por exemplos os terpenos. Na prospecção proposta por Barbosa (2004) a extração realizada com clorofórmio permitiu detectar a presença de azulenos e carotenóides. O primeiro encontrado principalmente em óleos, com potencial anti-inflamatório e o segundo trata-se de um cromoplasto com forte ação antioxidante.



a. Halo de inibição do Crescimento Bacteriano da *S. aureus* frente ao extrato clorofórmico da *F. patellifera*.

b. Halo de Inibição do Crescimento Bacteriano da *S. aureus* frente ao extrato metanólico da *F. patellifera*

Figura 22- Halo de inibição de crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* frente ao extrato de *F. patellifera*

O extrato metanólico que apresentou melhor resultado foi o da espécie *F. patellifera* (Figura 22b, Pág. 61), inibindo o crescimento das quatro cepas testadas. À espécie *F. chica* somente o *S. aureus* se mostrou sensível, enquanto que a espécie *F. florida* inibiu o crescimento da *Escherichia coli* e da *Pseudomonas aeruginosa* (Tabela 5). Somente o extrato da *F. brachypoda* não foi capaz de inibir o crescimento bacteriano na concentração utilizada. Com base nos resultados foi verificada a necessidade de realizar um estudo microbiológico mais aprofundado. Neste estudo deve ser incluindo a utilização de diferentes concentrações dos extratos, a fim de se determinar um perfil de inibição microbiana para as espécies, principalmente para as espécies *chica* e *brachypoda*, as quais não apresentaram resultados satisfatórios, visto as inferências na literatura sobre suas ações biológicas. A espécie *F. florida* apresentou resultados surpreendentes, visto que a literatura dispõe apenas de informações botânicas e agronômicas da mesma, o que pode torná-la espécie de interesse para estudos farmacológicos. A espécie *F. patellifera* a qual no presente estudo foi encontrada apenas uma referência sobre suas atividades biológicas confirmou seu potencial terapêutico.

Tabela 5 - Resultados dos testes microbiológicos do Extrato metanólico

Espécies	Resultados em Halos (cm)			
	GRAM +		GRAM -	
	<i>S. aureus</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Fridericia chica</i>	1,1	-	-	-
<i>Fridericia brachypoda</i>	-	-	-	-
<i>Fridericia florida</i>	-	-	1,2	1,3
<i>Fridericia patellifera</i>	1,5	1,6	1,5	1,4

S = *Staphylococcus*. E = *Escherichia*. P = *Pseudomonas*

4.5 Análise Farmacológica

Foram realizados os testes da placa quente (atividade antinociceptiva) e das contorções abdominais aplicados à verificação da atividade analgésica, edema de pata para ação anti-inflamatória, a toxicidade aguda para verificar possíveis efeitos tóxicos e o Rota Rod que verificou a toxicidade ao sistema nervoso central. Os resultados foram apresentados em gráficos, onde os pontos representam os valores das médias e as barras os valores do erro padrão da média (EPM). O teste t está representado por $p < 0,05$ (*), $p < 0,01$ (**) e $p < 0,001$ (***) onde representa o grau de significância da diferença dos tratamentos versus controle negativo.

4.5.1 Teste da Placa Quente

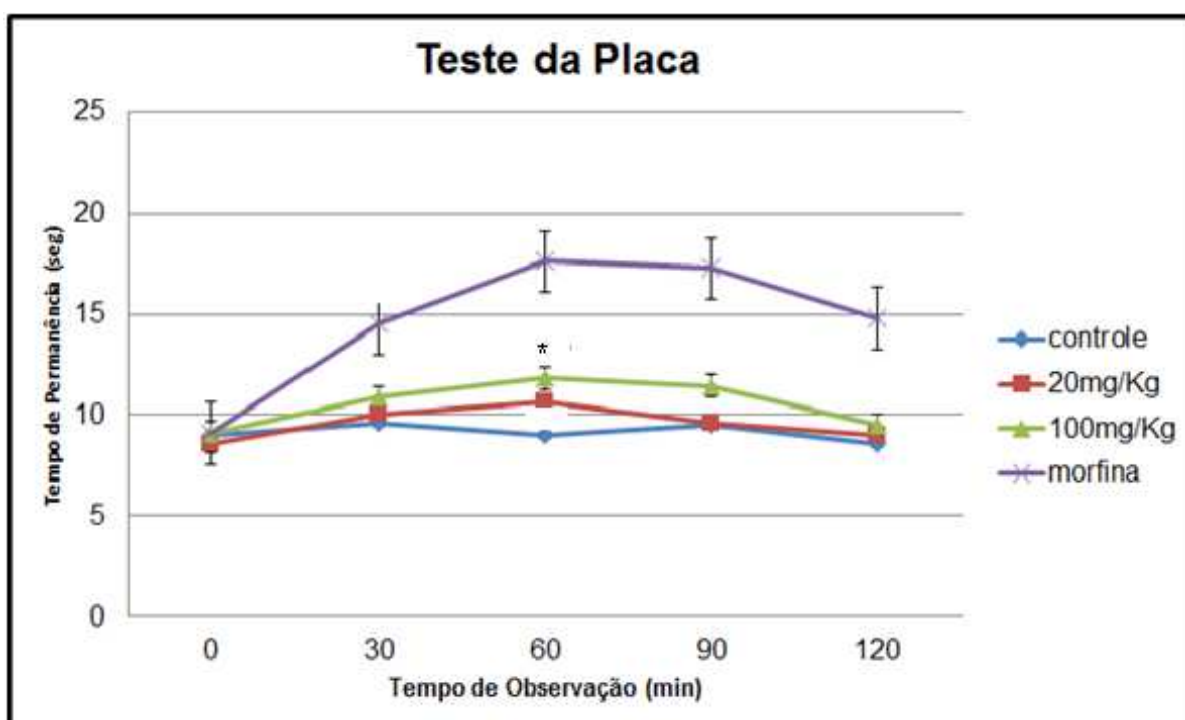


Gráfico 1 – Efeitos da administração oral do extrato de *F. brachypoda* sobre a termnocicepção na placa quente em patas de camundongos.

A *F. brachypoda*, apresentou atividade antinociceptiva discreta ($p < 0,05$), apenas no tempo de 60 minutos, no qual os grupos de animais tratados com o

extrato da espécie tiveram aumentados seus tempos de permanência sobre a placa aquecida ($55 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) sem apresentar sinais característicos da expressão de dor: levantar, lamber ou bater as patas (Gráfico 1, Pág. 63). Esse resultado corroborou com aqueles demonstrados na literatura, conforme Rocha et al. (2011) que verificou atividade antinociceptiva desta espécie

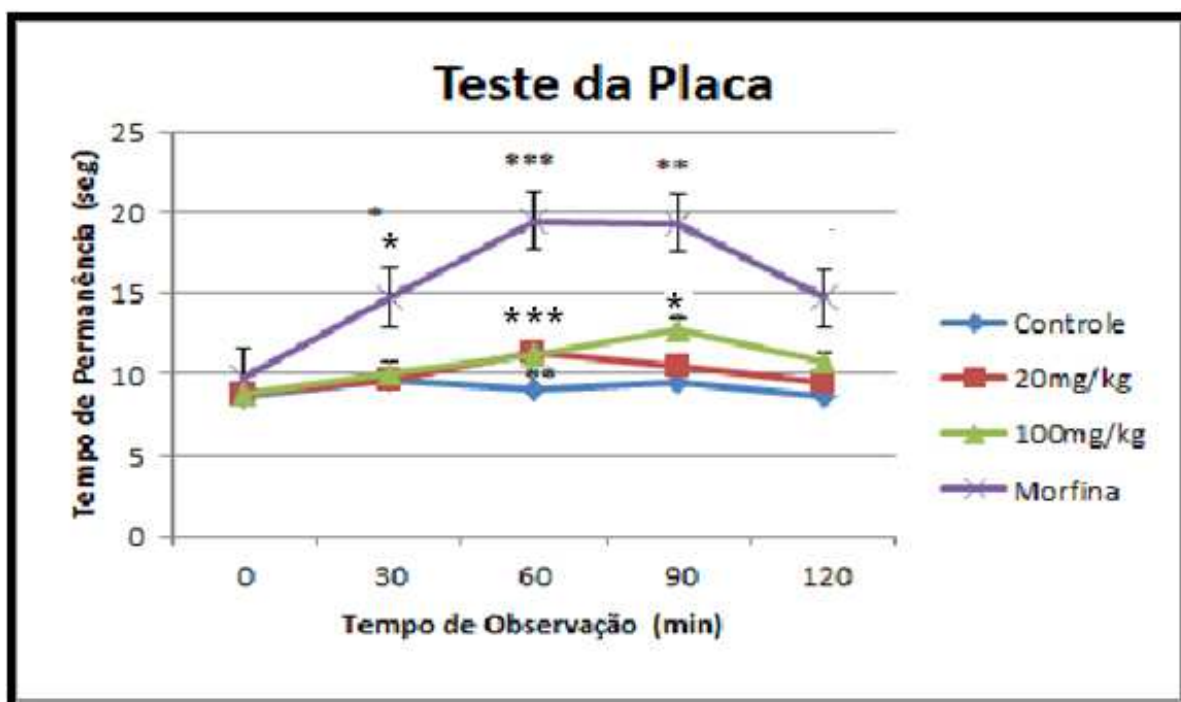


Gráfico 2 – Efeitos da administração oral dos extratos da *F. chica* sobre os animais testados na placa quente em patas de camundongos.

A espécie *F. chica*, também apresentou atividade superior ao controle negativo (água destilada), no tempo de 60 minutos do teste. Os extratos de concentração 20 e 100 mg Kg⁻¹ apresentaram respostas similares nos tempos de 60 e 90 minutos, embora a neste intervalo de tempo a dose de menor concentração (20 mg kg⁻¹) tenha apresentado declínio no tempo de permanência e a de maior concentração (100 mg kg⁻¹) revelou uma pequena elevação no tempo de permanência dos animais, embora ambas as doses estudadas mostraram atividade inferior ao controle positivo morfina usado nesse ensaio (Gráfico 2).

O extrato de *F. florida*, nas duas doses adotadas neste estudo, apresentou atividade ($p < 0,05$), aumentando o tempo de permanência dos animais na placa sem esboçar sinais de dor. O efeito foi percebido de forma significativa desde os

primeiros momentos de observação, e se manteve em todos os tempos tomados nas abordagens experimentais do método adotado, sendo considerados mais pronunciados aos 90 minutos para as duas doses testadas e aos 120 minutos para a dose de 20 mg kg⁻¹ conforme mostrado no Gráfico 3.

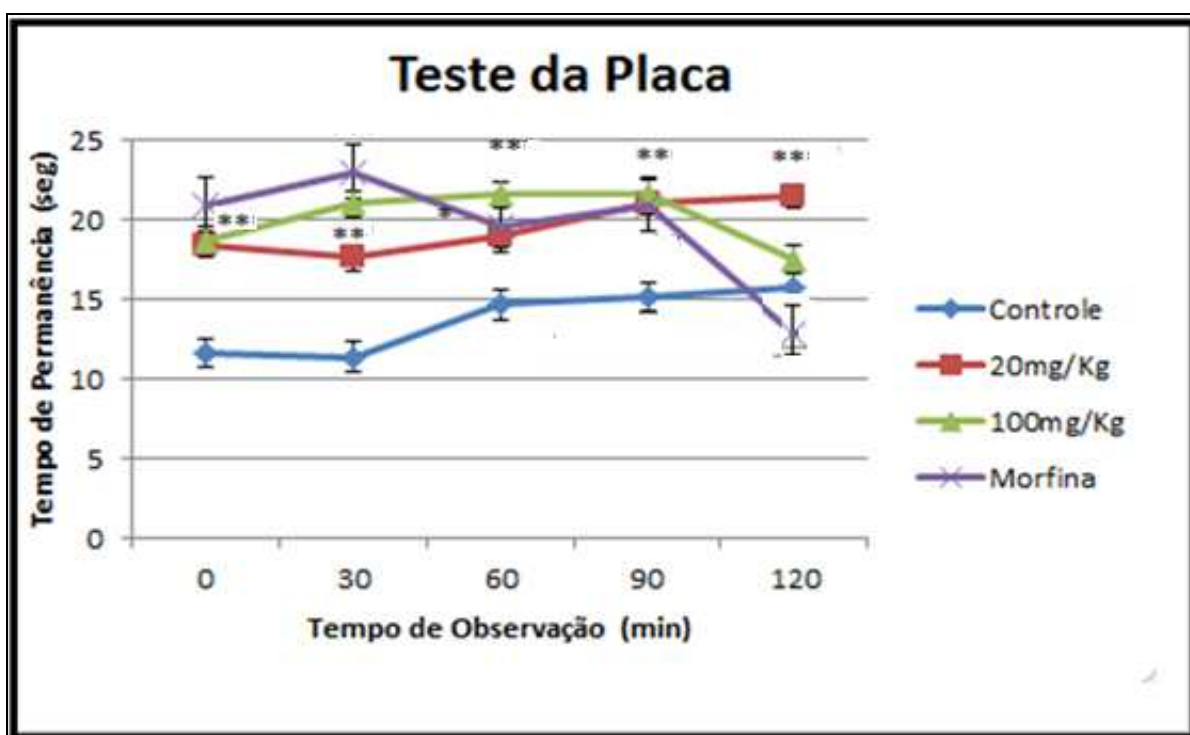


Gráfico 3 – Efeitos da administração oral dos extratos da *F. florida* sobre os animais testados na placa quente em patas de camundongos.

O extrato da *F. patellifera* apresentou ainda que significativa, discreta atividade antinociceptiva quando comparado ao controle negativo. A diferença foi observada no tempo de 60 minutos tomado o modelo adotado (Gráfico 4, Pág. 66).

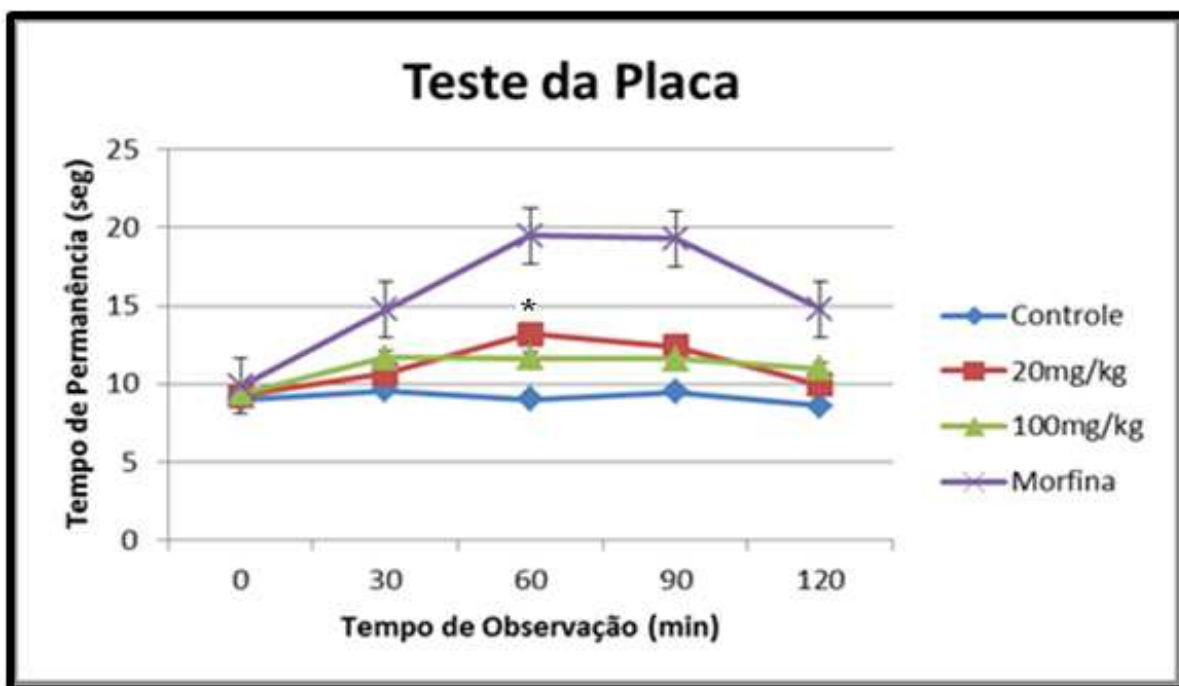


Gráfico 4 – Efeitos da administração oral dos extratos da *F. patellifera* sobre os animais testados na placa quente em patas de camundongos.

Em todos os tempos da observação considerados no experimento da submissão à placa quente, a espécie *F. florida* (Gráfico 3, Pág. 65) apresentou efeito significativamente melhor que ao das outras espécies. Tendo em consideração o comportamento gráfico, inferir-se maior eficiência e maior potência para aliviar a injúria termonociceptiva e elevar o tempo de permanência dos animais sobre a placa aquecida, portanto um indicativo de atividade analgésica.

4.5.2 Efeito Sobre as Contorções Abdominais Induzida por Ácido Acético.

O extrato da *F. brachypoda* apresentou atividade, reduzindo significativamente ($p < 0,01$) o número de contorções abdominais induzidas pelo ácido acético nos camundongos, quando comparado aos valores verificados nos grupos controles. A melhor atividade foi verificada quando tomado o tempo total de observação e contagem das contorções (20 minutos) após a administração do agente injuriante. (Gráfico 5, Pág. 67).

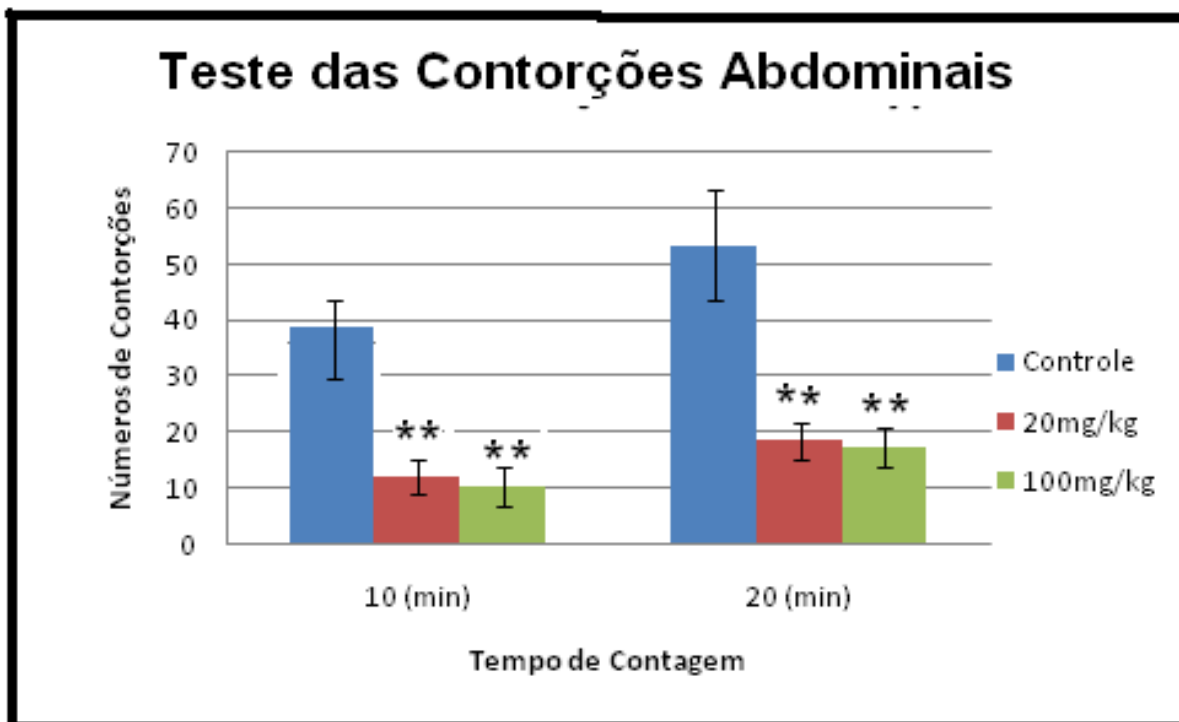


Gráfico 5 – Efeito da administração oral dos extratos de *F. brachypoda* sobre as abdominais induzidas pelo ácido acético intraperitoneal em camundongos

O resultado obtido frente ao uso do extrato da *F. chica* sobre as contorções promovidas pelo ácido acético foi efetivo. Interessantemente, apenas a menor dose utilizada do extrato (20mg Kg^{-1}) e no tempo de 20 minutos apresentou efeito analgésico significativo, por inibir as contorções dadas pelo agente tóxico (Gráfico 6, Pág. 68).

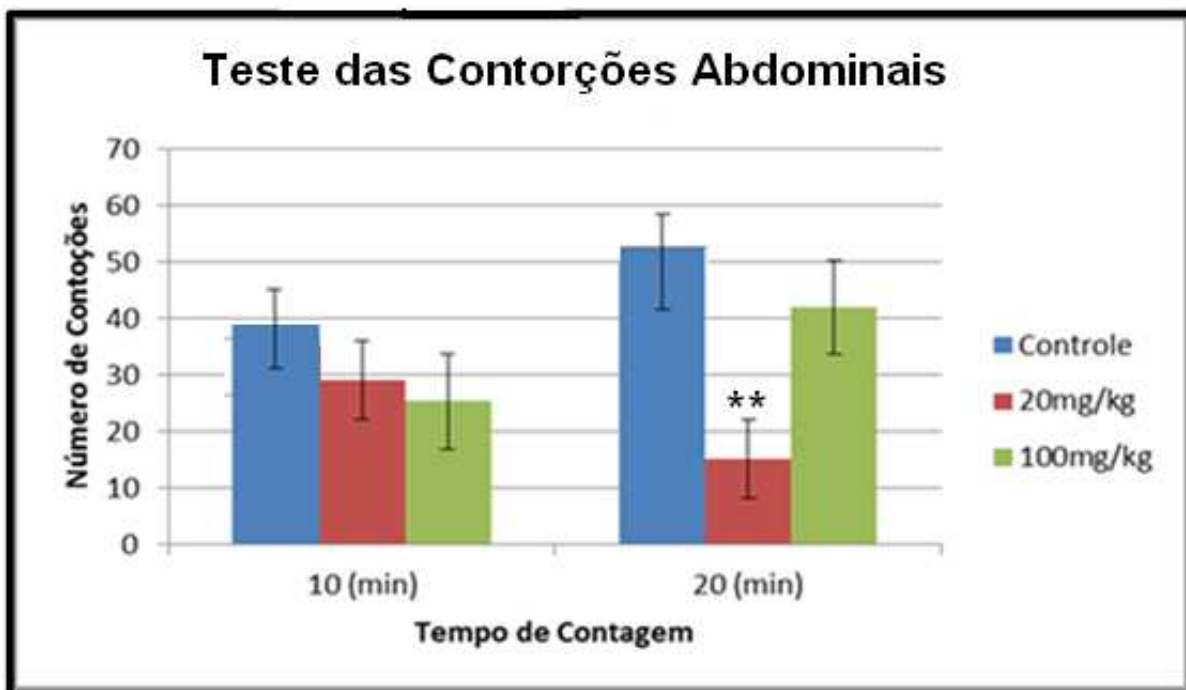


Gráfico 6 - Efeito da administração oral dos extratos de *F. chica* sobre as abdominais induzidas pelo ácido acético intraperitoneal em camundongos

A espécie *F. florida* apresentou atividade analgésica reduzindo significativamente ($p < 0,01$) as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético. A dose de 20mg kg^{-1} , entretanto, nos dois períodos considerados para observação e contagem apresentou-se ligeiramente mais efetiva que a de 100 mg kg^{-1} (Gráfico 7, Pág. 69).

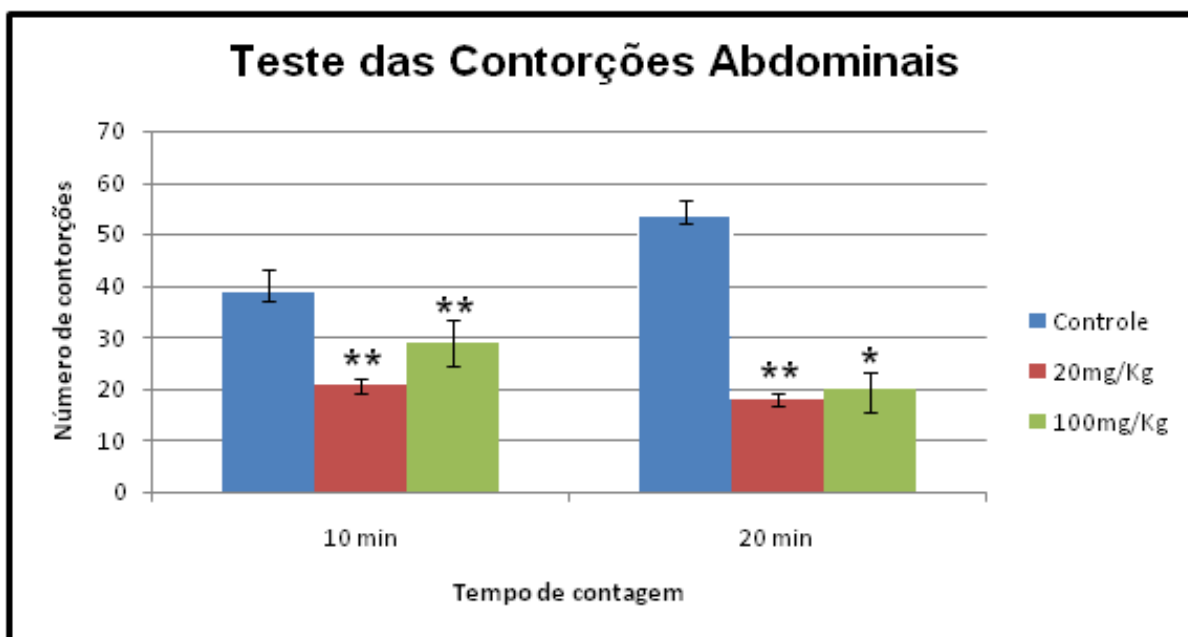


Gráfico 7 – Efeito da administração oral dos extratos de *F. florida* sobre as abdominais induzidas pelo ácido acético intraperitoneal em camundongos

O extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) da *F. patellifera* apresentou atividade semelhante ao da *F. florida*, onde ambas as doses testadas apresentaram atividade, sendo a dose de 20mg kg⁻¹ a mais pronunciada (Gráfico 8)

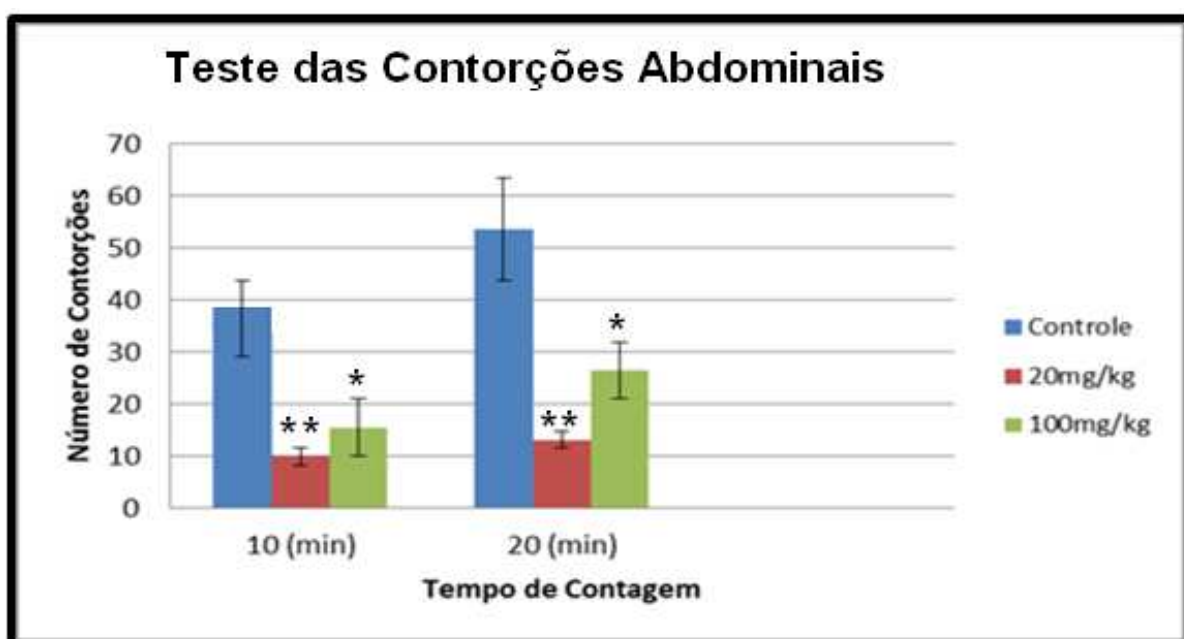


Gráfico 8 – Efeito da administração oral dos extratos de *F. patellifera* sobre as abdominais induzidas pelo ácido acético intraperitoneal em camundongos.

Ainda com base nos resultados dos testes de analgesia (placa e contorções) foi possível corroborar com o uso tradicional das espécies no alívio da dor. Há necessidade de estudos mais aprofundados a fim de se elucidar algumas vias dos mecanismos de ação e quais compostos são responsáveis pela mesma, na medida em que sejam testadas substâncias ou grupos de substâncias que constituem os extratos.

4.5.3 Efeito dos Extratos Sobre o Edema de Pata Induzido pela Carragenina.

Este teste se propõe a verificar a atividade anti-inflamatória, a partir da verificação da redução do edema de pata induzido por carragenina pelos extratos vegetais testados.

A inflamação pode ser denominada aguda ou crônica. A inflamação aguda inicia rapidamente e tem curta duração, de alguns minutos a horas ou dias, suas principais características são a exsudação de fluidos e proteínas plasmáticas, denominada edema e migração de leucócitos, predominantemente neutrófilos (KUMAR; ABBA, 2005). Diante disso, o processo inflamatório que foi analisado nesse teste foi um processo agudo. Os possíveis mecanismos de ação poderão estar relacionados com os mediadores da inflamação ligados principalmente as alterações vasculares e aos eventos celulares mediados pelos leucócitos que são as respostas iniciais da inflamação.

O extrato hidroalcoólico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) da *F. brachypoda* apresentou atividade similar nas duas doses testadas, reduzindo o edema de pata em camundongos, tanto no tempo de 60 minutos ($p < 0,05$), como no tempo de 120 minutos ($p < 0,05$) quando comparadas com o controle e foi semelhante ao da indometacina no tempo inicial tomado no teste, onde a maior redução do edema ocorreu no primeiro tempo de observação 60 minutos (Gráfico 9, Pág. 71).

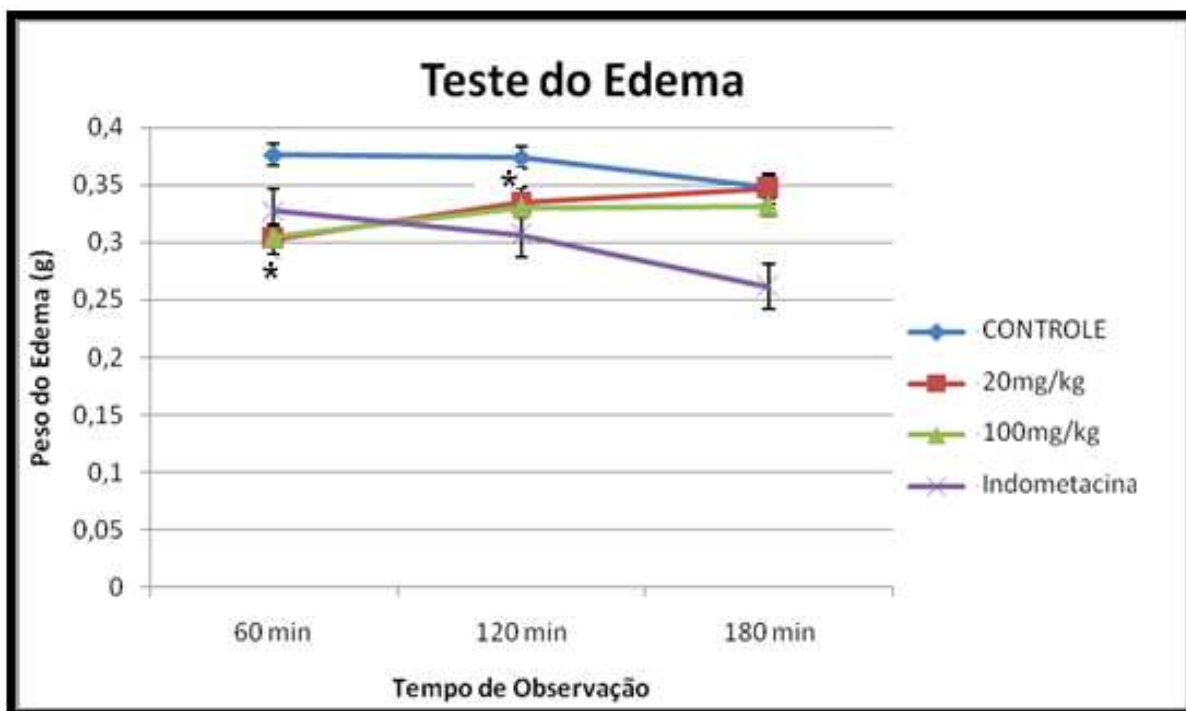


Gráfico 9 – Resposta da administração oral dos extratos de *F. brachypoda* sobre o edema de pata induzido pela injeção de carragenina em patas de camundongos.

A *F. chica* apresentou atividade apenas na dose de 20 mg Kg⁻¹ nos tempos de 60 minutos e 120 minutos, reduzindo o edema significativamente ($p < 0,05$) em relação ao controle negativo. O extrato na concentração de 100 mg kg⁻¹ em qualquer dos tempos tomados não apresentou variação na redução do edema (Gráfico 10, Pág. 72)

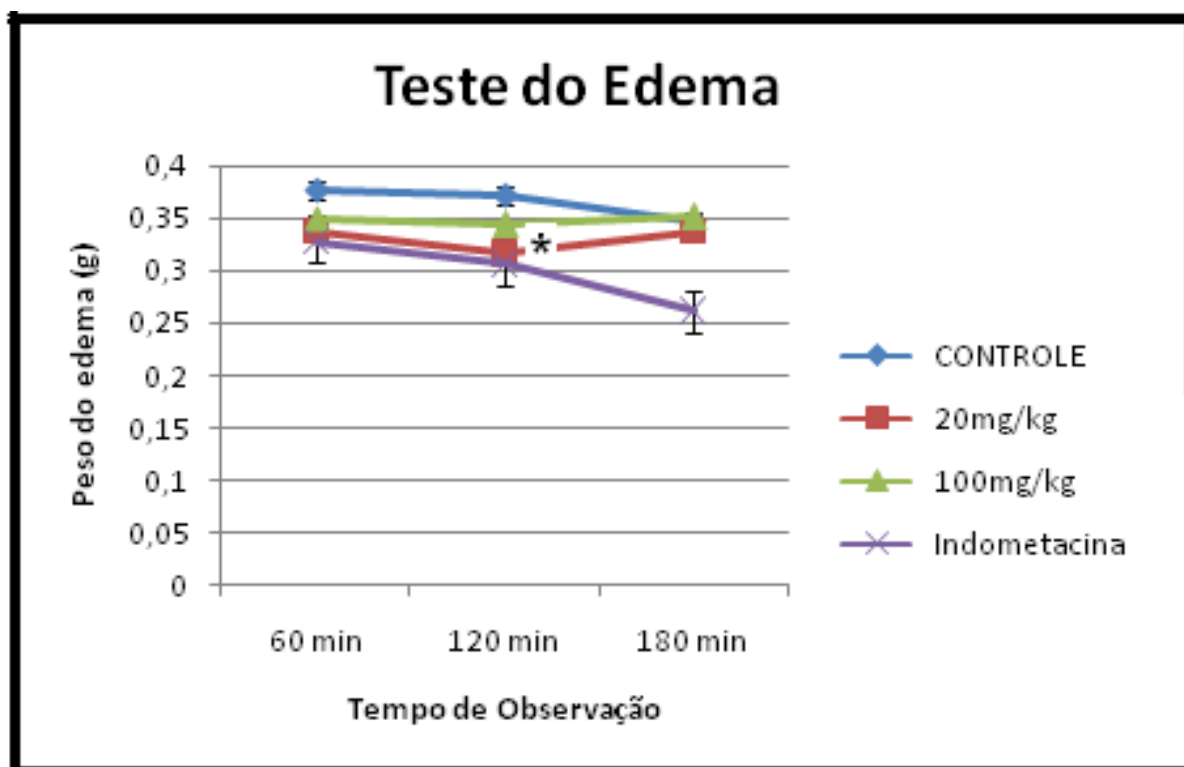


Gráfico 10 - Resposta da administração oral dos extratos de *F. chica* sobre o edema de pata induzido pela injeção de carragenina em patas de camundongos.

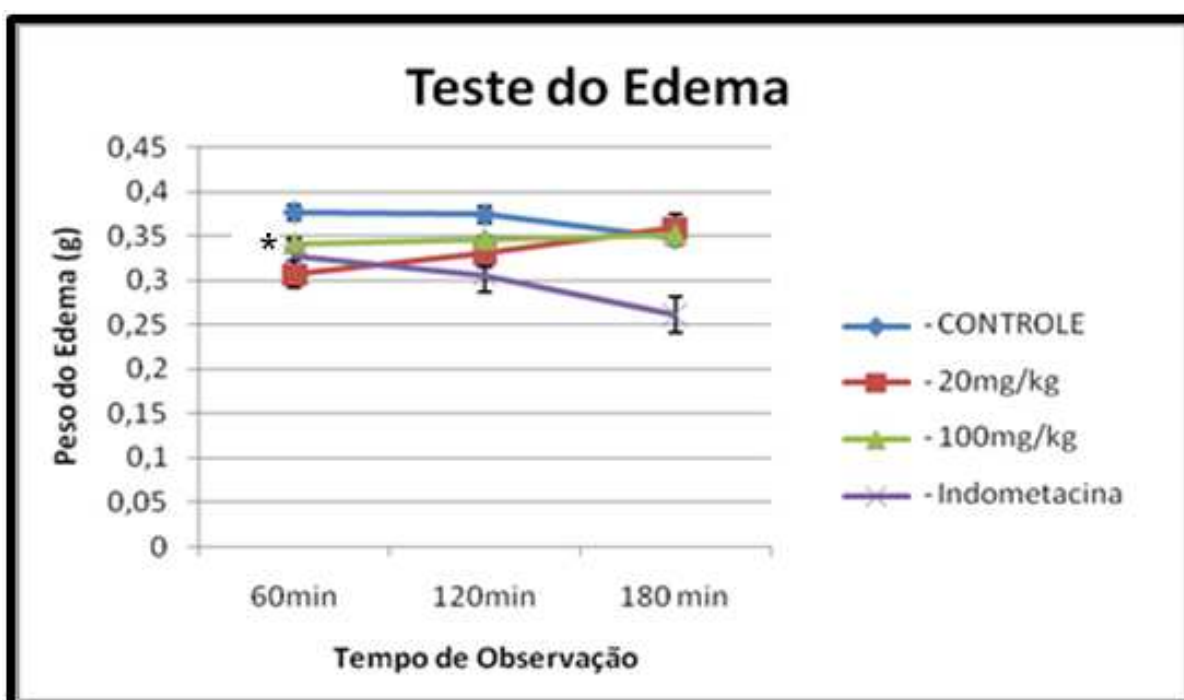


Gráfico 11 - Resposta da administração oral dos extratos de *F. florida* sobre o edema de pata induzido pela injeção de carragenina em patas de camundongos.

A espécie *F. florida* apresentou atividade, quando reduziu significativa ($p < 0,05$) o edema o extrato da espécie *F. florida* (20mg Kg^{-1}), no tempo de 120 minutos, ocorreu de modo semelhante ao efeito anti-inflamatório da indometacina observado nos experimentos deste estudo (Gráfico 11, Pág. 72).

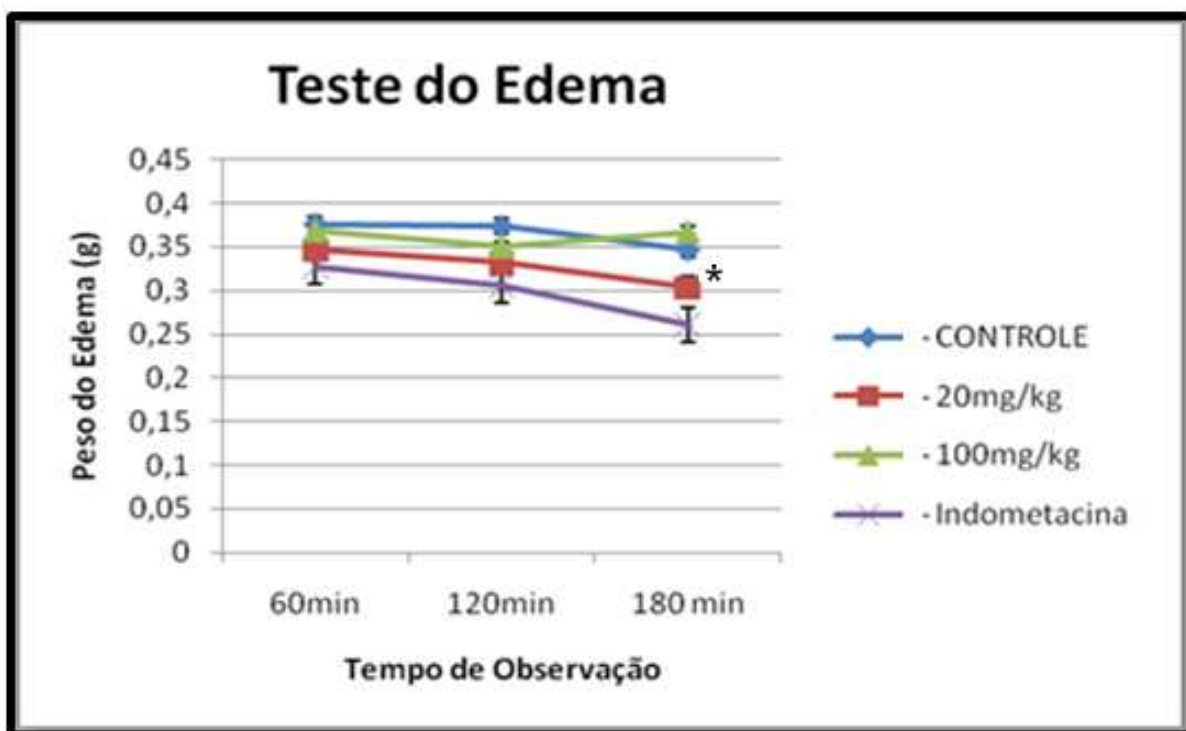


Gráfico 12 - Resposta da administração oral dos extratos de *F. patellifera* sobre o edema de pata induzido pela injeção de carragenina em patas de camundongos.

O extrato hidroalcolico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) da *F. patellifera*, na dose de 20mg Kg^{-1} , apenas no tempo de 180 minutos de observação inibiu de forma discreta o edema de patas induzido pela carragenina. Importante observar que a menor dose do extrato (20mg Kg^{-1}) foi melhor ou igual a maior dose (100mg Kg^{-1}) no que diz respeito aos efeitos observados. (Gráfico 12).

A espécie *F. florida* parece ser a espécie mais efetiva quanto aos seus efeitos observados e apresentados graficamente. O efeito antinociceptivo do extrato hidroalcolico (EtOH:H₂O, 7:3) (EH) da *F. florida* parece ser melhor que o das outras espécies consideradas neste trabalho. Seus efeitos na placa quente e sobre as contorções abdominais induzidas pelo ácido acético corroboram entre si.

Apresentou também efeito anti-inflamatório discreto nos tempos iniciais dos experimentos, aos 60 minutos, com significância ($p < 0,05$).

4.5.4 Teste do Rota Rod

De acordo com comportamento mostrado nos gráficos do teste Rota Rod para todas as espécies sob investigação, não houve modificação no desempenho motor dos animais tratados com os extratos das plantas, sugerindo que nas doses adotadas (20mg Kg^{-1} e 100mg Kg^{-1}) não ocorreu efeito deletério que possa causar depressão do sistema nervoso central (Gráficos 13-16, Págs. 75-77).

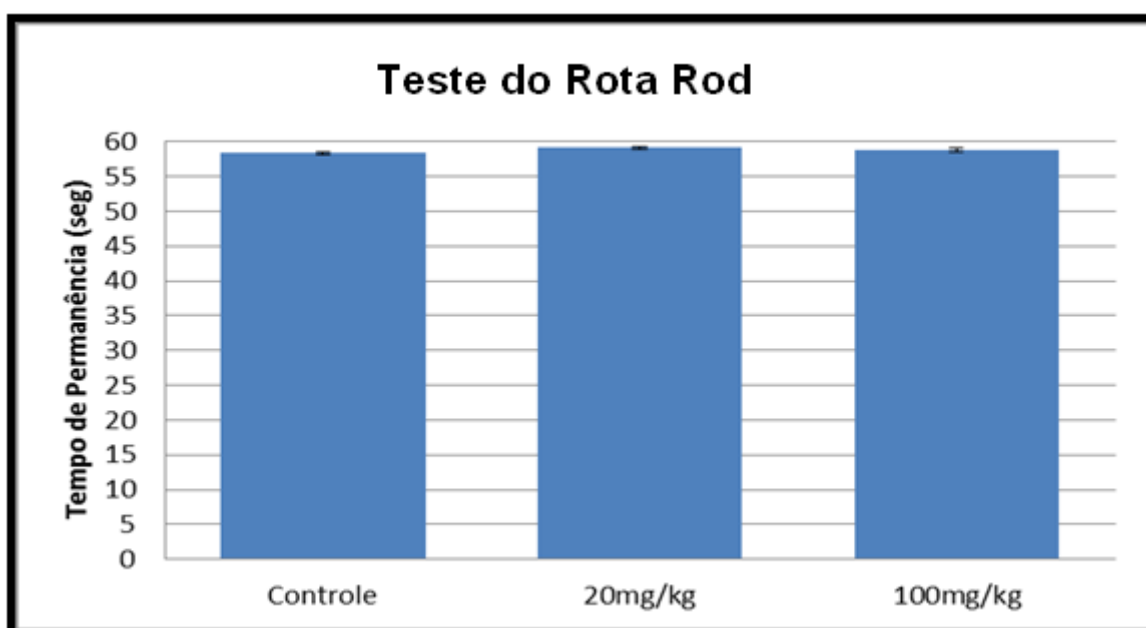


Gráfico 13 – Gráfico representativo do comportamento dos camundongos a variações na atividade motora após administração oral dos extratos da *F. brachypoda*.

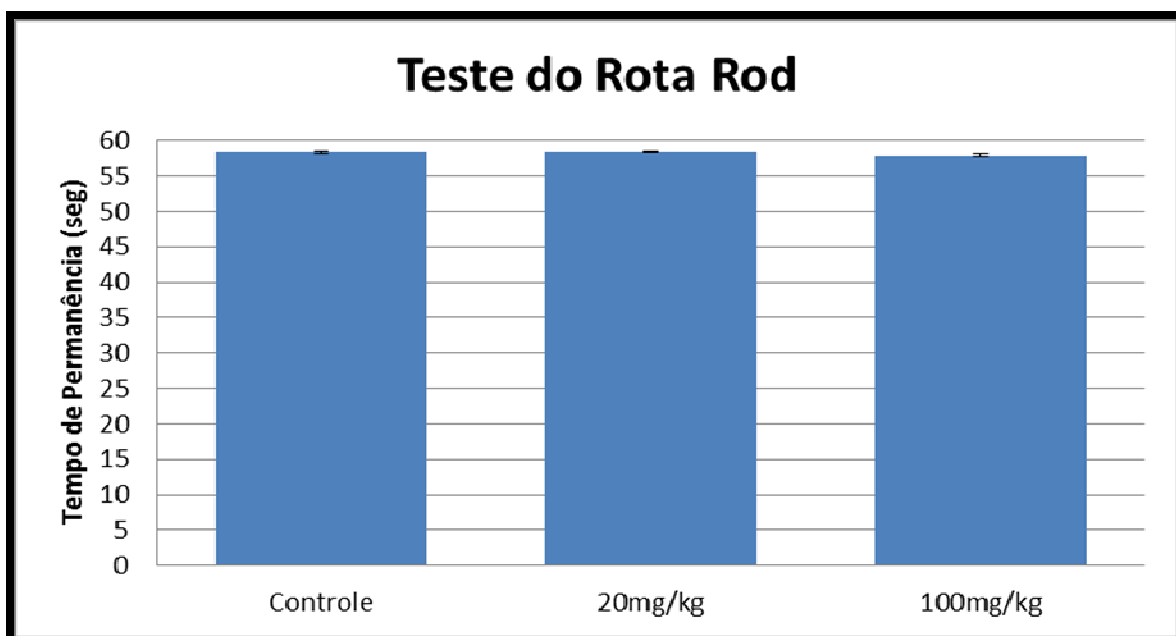


Gráfico 14 - Gráfico representativo do comportamento dos camundongos a variações na atividade motora após administração oral dos extratos da *F. chica*.

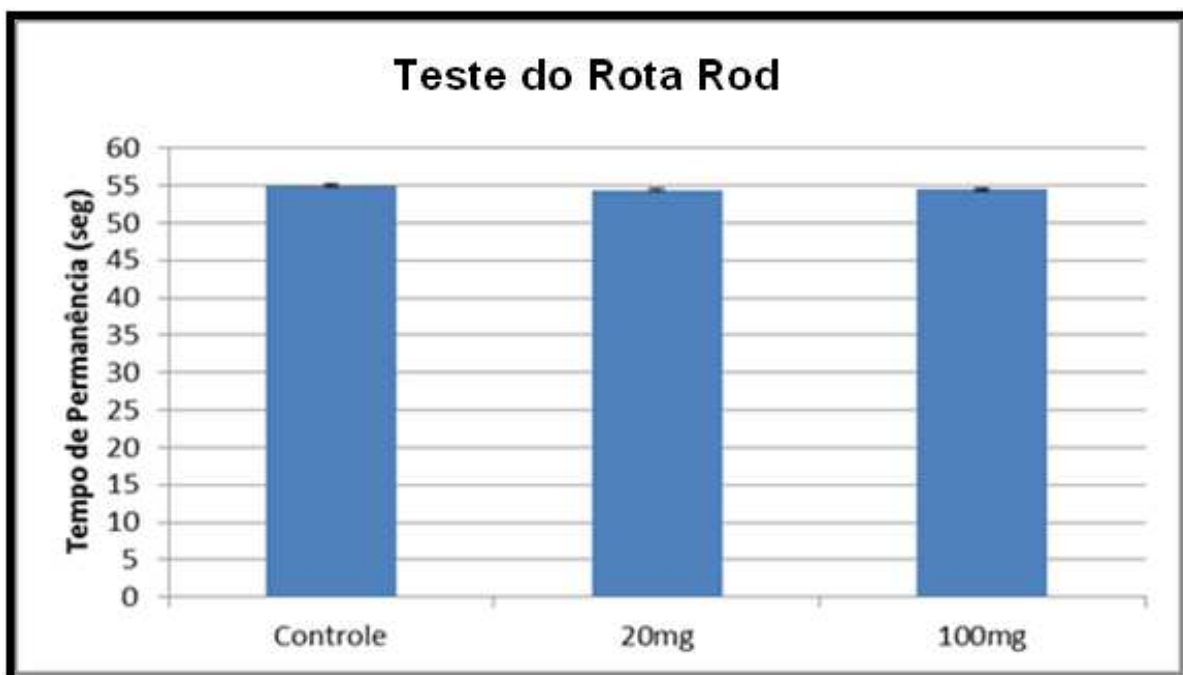


Gráfico 15 - Gráfico representativo do comportamento dos camundongos a variações na atividade motora após administração oral dos extratos da *F. florida*.

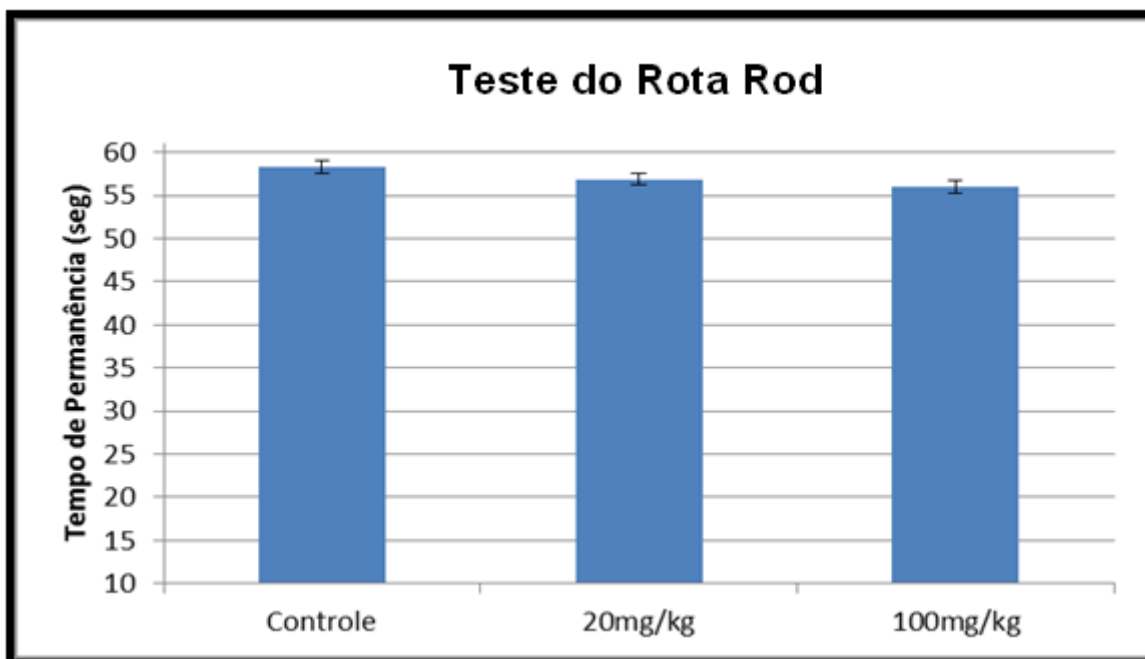


Gráfico 16 - Gráfico representativo do comportamento dos camundongos a variações na atividade motora após administração oral dos extratos da *F. patellifera*

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados das análises de prospecção fitoquímica correlacionaram com os resultados das análises biológicas, visto que aos componentes químicos presentes nas espécies são atribuídas as atividades antimicrobianas, analgésicas e anti-inflamatórias.

Foram evidentes as atividades antimicrobianas dos extratos das espécies estudadas.

Todas as espécies investigadas nos modelos com camundongos Swiss albinos apresentaram atividade analgésica e anti-inflamatória.

A *F. chica* apresentou resultados que corroboram com a literatura, embora a atividade antimicrobiana não tenha sido tão relevante como se esperava.

A espécie *F. florida* apresentou atividades biológicas não registradas na literatura.

A *F. patellifera* apresentou atividades analgésica e anti-inflamatória não registradas na literatura.

É importante a continuação das investigações utilizando outros modelos e que sejam feitas outras abordagens para as atividades encontradas neste estudo.

São necessários ainda estudos para elucidação dos mecanismos de ação.

O aprofundamento dos estudos fitoquímicos, seguido da avaliação das atividades biológicas dos grupos químicos, são passos importantes para validação dos usos destas plantas. Esses estudos forneceram informações para sua utilização racional e segura, com isto é possível minimizar os possíveis efeitos indesejáveis e fornecer uma opção à população no tratamento de doenças.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALCERITO, T.; BARBO, F. E.; NEGRI, G.; SANTOS, D. Y. A. C.; MEDA, C. I.; YOUNG, M.; CHAVEZ, D.; BLATT, C. T. T. Foliar epicuticular wax of *Arrabidaea brachypoda*: flavonoids and antifungal activity. **Biochemical Systematics and Ecology**. v. 30, p. 677-683, 2002.

ALVES, H. de M. A diversidade química de plantas como fonte de fitofármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, n. 3, p. 10-15, 2001.

ALVES, M. S. M.; MENDES, P. C.; VIEIRA, J. G. P.; OZELA, E. F.; BARBOSA, L. R.; SILVA-JUNIOR, J. O. C. Análise farmacognóstica das folhas de *Arrabidaea chica* (Humb. & Blonpl.) B. Verlot., Bignoniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 215-221, 2010.

ANDRADE, J. A. B.; HAAPATAINEN, E. F.; FAGUNDES-NETO, U. *Escherichia coli* enteroagregativa como agente provocador de diarreia persistente: modelo experimental utilizando microscopia óptica de luz. **Revista Paulista de Pediatria**, v. 29, n. 1, p. 60-66, 2011.

BARBOSA, W. L. R.; PINTO, L. N.; QUIGNARD, E.; VIEIRA, J. M. S.; SILVA-JUNIOR, J. O. C.; ALBUQUERQUE, S. *Arrabidaea chica* (HBK) Verlot: phytochemical approach, antifungal and trypanocidal activities. **Brazilian Journal Pharmacognosy**, v.18, n.4, p. 544-548, 2008.

BARBOSA, W. L. R.; QUINARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. **Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais**. 2. ed. revisada. Revista Científica da Universidade Federal do Pará, v. 4, 2004.

BARREIRO, E. J.; FRAGA, C. A. M. **Química medicinal**: as bases moleculares da ação dos fármacos. Porto Alegre: ARTMED, 2001. 243 p.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária-ANVISA. **Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção relacionada à assistência à saúde. Módulo 6**: detecção e identificação de bactérias de importância médica. Brasília: ANVISA, 2013.

BRASIL. Decreto nº 5.813, de 22 de junho de 2006. Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF. 23 de junho 2006. Secção 1, p. 2.

CARDOSO, H. T.; SANTOS, M. L. Estudos sobre a presença de antibióticos em vegetais. **Bras. Med**, São Paulo, v. 62, p. 67-70, 1946.

CARNEIRO, I. C. R. S.; BOULHOSA, D. C.; BEZERRA, S. S. Infecção da corrente sanguínea por *Pseudomonas aeruginosa* em unidade neonatal. **Revista Paraense de Medicina**. v. 21, n. 4, 2007.

CARVALHO, A. C. B.; ARAÚJO, D. D.; FERNANDES, M. G.; MELO, A. F. M.; MEDEIROS, I. A.; DINIZ, M. F. F. M. Avaliação da adequação da publicidade de produtos naturais anunciados na Paraíba. **Revista de Ciência Farmacêutica Básica e Aplicada**, v. 26, n.1, p. 55-62, 2005.

CHAGAS-JUNIOR, J. M. das; CARVALHO, D. A. de; ESTEVES, M. M. A família Bignoniaceae Juss. (Ipês) no município de Lavras, Minas Gerais. **Cerne**, v. 16, n. 4, p. 517-529, 2010.

CHEIKHYOUSSEF, AHMAD.; SHAPI, MARTIN.; MATENGU, KENNETH.; ASHEKELLE, H. M. Ethnobotanical study of indigenous knowledge on medical plant use by traditional healers in Oshikoto region, Namibia. **Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine**, v. 7, n.10, p. 1-11, 2011.

CRAIG, W. J. Health-promoting properties of common herbs. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 491-499, 1999.

CUNNINGHAM, FRANCIS.; MENEZES, FABIO. S. Ethnopharmacology in Dublin: surveys on the medicinal plants use profile. **Brasilian Journal of Pharmacognosy**. v. 21, n. 5, p. 814-817, 2011.

DI STASI, L. C. HIRUMA-LIMA, C. A. **Plantas medicinais na Amazônia e na mata atlântica**. 2 ed. Revista e ampliada, São Paulo: Unesp, 2002. 607 p.

DUARTE, M. C. T. Atividade antimicrobiana de plantas medicinais e aromáticas utilizadas no Brasil. **MULTICIÊNCIA**, n. 7, 2006.

ESTEVEZ, Y.; CASTILLO, D.; PISANGO, M.T.; AREVALO, J.; ROJAS, R.; ALBAN, J.; DEHARO, E.; BOURDY, G. SAUVAIEN, M. Evaluation of the leishmanicidal

activity plants used by Peruvian Chayahuita ethnic group. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 114, p. 254-259, 2007.

FRANCIS, F. J. **Analysis of anthocyanins in foods**. In: Markakis P, **Anthocyanins as Food Colors**. New York, Academic Press, p. 181-207, 1982. apud TEIXEIRA, L. N.; STRINGHETA, P. C.; OLIVEIRA, F. A. de. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Ceres**, v. 55, n. 4, p. 297- 304, 2008.

FUENTEFRIA, D. P.; FERREIRA, A. E.; GRAF, T.; Corção, G. *Pseudomonas aeruginosa*: disseminação de resistência antimicrobiana em efluente hospitalar e água superficial. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**. v. 41, n.5, p. 470-473, 2008.

GUPTA, M. P.; CORREA, M. D.; SOLÍS, P. N.; JONES, A.; GALDAMES, C.; SINCLAIR, F. G. Medicinal plant inventory of Kuna Indians: Part I. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 40, p. 77-109, 1993.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Fisiologia Médica**. 11. ed. Philadelphia: WB. Saunders, 2006.

HARBORNE, J. B. Comparative biochemistry of the flavonoids – IV. **Phytochemistry**. v. 6, n. 1, p. 1643-1651, 1967.

INBIO, Instituto Nacional de Biodiversidade da Costa Rica. <http://darwin.bangor.ac.uk/flora.html>. Acessado em 11 de setembro de 2013

INOUE, M. H.; PALERMO, G. P. S.; DALLACORT, K. F. M.; CONCIANI, P. A.; BEM, R.; CAVALCANTE, N. R. Levantamento das ervas daninhas nas épocas secas e chuvosas em áreas de pastagens plantadas no sudoeste do Mato Grosso. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, v. 10, n.1, p. 81-92, 2012.

JORGE, A. O. C. **Princípios de Microbiologia e Imunologia**. 1. ed. São Paulo: Santos, 2010. 418 p.

JORGE, M. P.; MADJAROF, C.; RUIZ, A. L. T. G.; FERNANDES, A. T.; RODRIGUES, R. A. F.; SOUSA, I. M. O.; FLOGLIO, M. A.; CARVALHO, J. E. Evaluation of wound healing properties of *Arrabidaea chica* Verlot extract. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 118, p. 361-366, 2008.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. de.; CUNHA, B. C. A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. 19 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 716p.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. **Robbins e Conran**: patologia, bases patológicas das doenças. 7 ed. Elsevier, 2005.

LAPA, A. J.; LIMA, T. C. M. de. **Métodos farmacológicos para validação de plantas medicinais**. Rede de validação de plantas medicinais – RIVAPLAMED: Programa Iberoamericano de Ciência e Tecnologia para o Desenvolvimento – CYTED, 2001.

LO, S. D.; SHIEH, H. H.; RAGAZZI, S. L. B.; KOCH, V. H. K. MARTINEZ, M. B.; GILIO, A. E.. Infecção Urinária Comunitária: etiologia, segundo idade e sexo. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 35, n. 2, p. 93-98, 2013.

LÔBO, K. M. S.; ATHAYDE, A. C. R.; SILVA, A. M. A.; RODRIGUES, F. F. G.; LÔBO, I. S.; BEZERRA, D. A. C.; COSTA, J. G. M. Avaliação da atividade antibacteriana e prospecção fitoquímica de *Solanum paniculatum* Lam. e *Operculina hamiltonii* (G. Don) D. F. **Revista Brasileira de Plantas Medicas**, v.12, n. 2, p.227-233, 2010.

MARINHO, M. L.; ALVES, M. S.; RONDONDANO, T. E. F.; VIDAL, I. F.; SILVA, W. W.; ATHAÍDE, A. C. R. A utilização de plantas medicinais em medicina veterinária: um resgate do saber popular. **Revista Brasileira de Plantas Médicas**, v. 9, n. 3, p. 64-69, 2007.

MARQUES, L. C. Fitoterapia componente modista da “onda verde” ou pretendente a categoria de ciência? **Revista Racine**, v. 8, n. 43, p. 76, 1998.

MARTIN, F.; HAY, A. E.; CRESSEND, D.; REIST, M.; VIVAS, L.; GUPTA, M. P.; CARRUPT, P .A.; Hostettmann, K. Antioxidant c- glucosylxanthones from the leaves of *Arrabidaea patellifera*. **Journal of Natural Products**., v. 71, p. 1887-1890, 2008.

MATOS, F. J. A. **Introdução a fitoquímica experimental**. Fortaleza: UFC, 1988, 124 p.

MENEZES, K. M.P. de.; Góis, M.A.G.; Oiveira, I.D.; et al. Avaliação da Resistência da *Escherichia coli* frente a Ciprofloxacina em uroculturas de três laboratórios clínicos de Aracajú-SE. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 41, n. 3, p. 239-242, 2009.

MILAGRES, L. G.; MELLES, C. E. A. Diferenças nas propriedades adesivas de *Staphylococcus saprophyticus* a células HEp-2 e eritrócitos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v. 34, n. 4, p. 315-321, 1992.

MONTEIRO, J. M. ALBURQUERQUE, U. P. de; Araújo, e. DE I.; AMORIM E. L. C. de. Taninos: uma abordagem da química à ecologia. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 892-896, 2005.

MOURA, G. B. de.; FERMANDES, M. G. A incidência de infecções do trato urinário causada por *E. coli*. **Revista Olhar Científico**. v. 1, n. 2, 2010

OLIVEIRA, D. P. C. de.; BORRÁS, M. R. L.; FERREIRA, L. C. L.; LOPÉZ-LOZANO, J. L. Atividade anti-inflamatória do extrato aquoso da *Arrabidaea chica* (Hump. & Blonp) B. Verl. Sobre o edema induzido por venenos de serpentes amazônicas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 19, n. 2B, p. 643-649, 2009.

OLIVEIRA, H. B. de.; KFFURI, C. W.; CASALI, V. W. D. Ethnopharmacological study of medicinal plants used in Rosário da Limeira, Minas Gerais, Brazil. **Brasilian Journal of Pharmacognosy**. v. 20, n. 2, p. 256-260, 2010.

OLIVEIRA, L. F. Dor: fisiopatologia. **Revista Brasileira de Anestesiologia**. v. 28, n. 3, p. 227-288, 1979.

OSTROSKY, E. A.; MIZUMOTO, M. K.; LIMA, M. E. L. KANEKO, T. M.; NISHIJAWA, S. O.; FREITAS, B. R. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração inibitória mínima. (CIM) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v. 18, n. 2, p. 301-307, 2008.

PAVIANI, E. R.; STADNIK, C. B.; HEINEK, I. Estudo da epidemiologia e perfil de sensibilidade da *Pseudomonasaeruginosa*. **Infarma**, v. 15, n. 1, p. 11-12, 2004.

PORT'S, P. da S.; CHISTÉ, R. C.; GODOY, H. T.; PRADO, M. A. The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**, v. 54, N. 1, P. 354-366, 2013.

PUHL, M. C. M. N.; GUTIERRE, M. A. M.; NAKAMURA, C. V.; CORTEZ, D. A. G. Morfoanatomia das folhas e dos caules jovens de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl (Bignoniaceae). **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 26, n. 2, p. 224-229, 2007.

RATES, S. M. K. Plants as source of drugs. **Toxicon**, v. 39, p. 603 – 613, 2001.

RENISUS. <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>. Acessado em: agosto 2013.

RIBEIRO, A. F. C.; TELLES, T. C.; FERRAZ, V. P.; SOUZA-FAGUNDES, E.M.; CASSALI, G. D.; CARVALHO, A. T.; MELO, M. M. Effect of *Arrabidaea chica* extracts ehrlich solid tumor development. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 2, p. 2012.

ROCHA, C. Q. da.; VILELA, F. C.; CAVALCANTE, G. P.; SANTA CECÍLIA, F. V.; SILVA, L. SANTOS, M. H. dos.; PAIVA, A. G. Anti-inflammatory and antinociceptive effects off *Arrabidaea brachypoda* (DC) Bureau roots. **Journal of Ethnopharmacology**. 133, p. 396-401, 2011.

ROSA, C. da; CÂMARA, S. G.; BÉRIA, J. U. Representações e interações de uso da fitoterapia na atenção básica à saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n. 1, p. 311-318, 2011.

ROSLAND, J. H.; TJOLSEN, A.; MAEHLE, B.; HOLE, K. The formalin test in mice: effect of formalin concentration. **Pain**, v. 42, p. 235-242, 1990.

SANTOS, J. F. L.; PAGANI, E.; RAMOS, J.; RODRIGUES, E. Observations on the therapeutic practices of riverine communities of the Unini river, AM, Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 142, p. 503-515, 2012.

SANTOS, K. dos.; KINOSHITA, L.S.; REZENDE, A. A. Species composition of climbers in seasonal semideciduous forest fragments of Southeastern of Brazil. **Biota Neotropical**, v. 9, n. 4, 2009.

SANTOS, M. R. A. dos.; LIMA, M. R. de. Levantamento dos recursos vegetais utilizados como fitoterápicos no município de Cujubim, Rondônia, Brasil. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 62, p. 1677-8618, 2009.

SANTOS, P. B dos. **Contribuição ao estudo químico, bromatológico e atividade biológica de Angico *Anadenanthera colubina* (Vell.) Brenan Var. cebil (Gris.) Alts. e Pereiro *Aspidosperma pyrifolium* Mart.** 2010. 46f. Dissertação (Mestrado em Zootécnica), Universidade Federal de Campina Grande, Patos, Pernambuco, 2010.

SARDI, J. C. O.; ALMEIDA, A. M. F.; GIANINI, M. J. S. M. New antimicrobial therapies used against fungi present in subgingival sites – A brief review. **Archives of Oral Biology**, v. 56, p.951-959, 2011.

SCHNITZER, S. A.; MANGAN, S. A.; DALLING, J. W.; BALDECK, C. A. et al. Liana abundance, diversity, and distribution on Barro Colorado Island, Panama. **Plos One**, v. 7, 2012.

SCHULZ, V.; HANSEL, R.; TYLER, L. V. **Fitoterapia racional**: um guia de fitoterapia para ciências da saúde. 4. ed. São Paulo: Manole, 2002. 406 p.

SCOGIN, R. Anthocyanins of the Bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 8, p. 273-276, 1980.

SCUDELLER, V. V. Bignoniaceae Juss. no parque nacional da serra da Canastra – Minas Gerais, Brasil. **Lheringia: Série Botânica**, v. 59, n. 1, p. 59-73, 2004.

SHINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTOS, R. M. Analysis of total phenol and oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. **Methods of Enzymology**, v. 299, p. 152-177, 1999.

SILVA, E. M.; SOUZA, J. N. S.; ROGEZ, H.; REES, J. F.; LARONDELLE, Y. Antioxidant activities and polyphenolic contents fifteen selected plants species from the Amazonian region. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1012-1018, 2007.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 5. ed., 2003. 1.102 p.

SOARES, M; WELTER, L.; KUSKOSK, E. M.; GONZAGA, L. FETT, R. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas Niagara e Isabel. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 1, p. 059-064, 2008.

SOUSA, O. V.; DEL-VECCHIO, V. G.; ALMEIDA, B. H. Efeitos farmacológicos e toxicológicos do extrato de *Posoqueria acutifolia* Mart. (Rubiaceae) em roedores. **Revista Ciência Farmaceutica Básica Aplicada**. v. 8 , n. 1, p. 51-56, 2007.

TAFFARELO, D.; JORGE, M. P.; SOUZA, I. M. O.; DUARTE, M. C. T.; FIGUEIRA, G. M.; QUEIROZ, N. de C. A.; RODRIGUES, R. A. F.; CARVALHO, J. E.; GOES, A. L. T. R.; FOGGIO, M. A.; RIVEROS, J. M.; EBERLIM, M. N.; CABRAL, E. C.

Atividade de Extratos de *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl) Verlot. Obtidos por processos biotecnológicos sobre a proliferação de fibroblasto e células tumorais humanas. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 431-436, 2013.

TAKEMURA, O. S.; IIMURA, M.; HIDEKI, T.; OBDULIO, G. M.; MOREIRA, A. E.; NOZAWA, Y. A flavone from leaves of *Arrabidaea chica* f. CRUPEA. **Phytochemistry**, v. 38, n. 5, p. 1299-1300, 1995.

TJOLSEN S, KATSUMATA K, TANNO K, SAKURADA SE, KISARA K. The capsaicin test in mice for evaluating tachykinin antagonists in the spinal cord. **Neuropharmacology**, v. 31, p. 1279-1285, 1992

TUFFI, S.L.D.; CARDOSO, F.O.; SANTOS JR, A.; SANTANNA SANTOS, B.F.; FELIX, R.C.; LEITE, F.P. Floristic and structural variation of weeds in eucalyptus plantations as influenced by relief and time of year. **Planta Daninha**, v. 31 n. 3, p. 491-499, 2013.

UDULUTSCH, R. G.; SOUZA, V.C.; RODRIGUES, DIAS, P. Composição florística e chaves de identificação keys lianas da estação ecológica Caetetus Ecological, estado de São Paulo, Brasil. **Rodriguesia**, v. 61, n. 4, p. 715-730, 2010.

VALDIR-FILHO, C.; YUNES, R. A. Estratégias para obtenção de compostos farmacologicamente ativos a partir de plantas medicinais: conceitos sobre modificação estrutural para otimização da atividade. **Química Nova**, v. 21, n. 1, p. 99-105, 1998.

VON POSER, G. L.; SCHRIPSEMA, J.; HENRIQUES A. T.; JENSENS, S. R. Distribution iridoidsin Bignoniaceae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 28, p. 351- 366, 2000.

WATERMAN, P. G.; MOLE, S. **Analysis of phenolic plant metabolites**. Oxford: Blackwell, 1994. apud YARIWAKE, J. H.; LANÇAS, F. M.; CAPPELANO, E. A.; VASCONCELOS, E. C. de; TIBERTI, L. A.; PEREIRA, A. M. S.; FRANCA, S. de C. Variabilidade sazonal de Constituintes químicos (triterpenos, flavonóides e polifenóis) das folhas de *Maytenus aquifolium* Mart. (Celastraceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 2, p. 162-168, 2005.

WINTER, C. A.; RISELY, E. A.; NUSS, G. W. Carrageenan-induced edema in the hind paw of the rat as assay for antiinflammatory drugs. **Proceedings of the Society for Experiments Biology and Medicine**, v. 111, p. 544-547, 1962

ZHISHEN, J.; MENGCHENG, T.; JIANMING, W. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. **Food Chemistry**, v. 64, p. 555-559, 1999.

ZORN, B.; GARCIA, P. A. J.; CASTRO, V.; MURILLO, R.; MORA, G.; MERFORTE, I. 3-Desoxyanthocyanidins from *Arrabidaea chica*. **Phytochemistry** v. 56, p. 831-835, 2001.