



**ESTUDO DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DOS EXTRATOS AQUOSOS  
DA *TARAXACUM OFFICINALE***

**Thayná Faria Cruz**

**Rio de janeiro, 2019**

**THAYNÁ FARIA CRUZ**

**ESTUDO DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DOS EXTRATOS  
AQUOSOS DA *TARAXACUM OFFICINALE***

Trabalho de Conclusão de Curso, TCC, apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia, do Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia, sob a orientação do Professor Dr. Gláucio Diré Feliciano.

Rio de Janeiro

2019

**ESTUDO DOS EFEITOS BIOLÓGICOS DOS EXTRATOS AQUOSOS  
DA *TARAXACUM OFFICINALE***

Elaborado por Thayná Faria Cruz

Discente do Curso de Farmácia da UEZO

Este trabalho de Graduação foi analisado e aprovado com grau: .....

---

Presidente, Dr. Gláucio Diré Feliciano, UEZO.

---

Membro efetivo, Ms. Cláudia Cristina Hastenreiter da Costa Nascimento, UEZO.

---

Membro efetivo, Dr<sup>a</sup>. Alaíde de Sá Barreto, UEZO.

---

Membro Suplente, Dr<sup>a</sup>. Catharina Eccard Fingolo, UEZO.

Rio de janeiro

2019

Dedico este trabalho a todos que nunca me deixaram perder o foco na verdadeira caminhada.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus por ter me capacitado e me dado forças para lutar pelos meus sonhos.

Ao Professor orientador Dr. Gláucio Diré Feliciano, por me acolher no LAQB e pela confiança e oportunidade de realizar meu projeto.

A Mestra Cláudia Nascimento por todo ensinamento que obtive.

Aos meus pais Rozalina e Gilson por todo apoio, pelo investimento, incentivo, ensinamentos sobre a vida e por sempre acreditarem na minha capacidade.

A minha irmã Thaylane por ser uma das minhas fontes de inspiração.

Ao meu cunhado Roberto por todo apoio e incentivos dados e pelos ensinamentos do Excel.

Aos meus familiares por todo apoio.

As minhas amigas, em especial, Taiane, Késia, Caroline, Priscila, Geruza e Larissa por estarem comigo nesses cinco anos nessa caminhada extremamente árdua, por nunca me deixarem desistir e por me mostrarem a cada dia o meu potencial.

Aos meus amigos de laboratório Alexander, Luís Fernando e Vinícius por toda ajuda no meu projeto, pelas risadas e por fazerem do meu dia-a-dia no laboratório bem mais divertido, sem vocês nada disso teria se concluído.

Aos meus professores da UEZO por todo ensinamento que me foi dado ao longo de cada período.

Em memória, deixo um agradecimento mais que especial a minha tia Jociane Frisso Cruz, que me ensinou que na vida temos que retirar o melhor de tudo, até mesmo dos momentos mais dolorosos, e assim, através dos meus cuidados com ela, nasceu o meu amor pela oncologia e fitoterapia. Através dela nasceu o meu projeto de TCC utilizando a *Taraxacum officinale*, a qual foi utilizada com ela para minimizar sua dor e tentar de alguma forma ajudá-la. E como prometido a minha tia, estou aqui concluindo esse projeto para quem sabe futuramente poder ajudar ou minimizar a dor do próximo. A ela, o meu muito obrigada!

Enfim, agradeço a todos que, de alguma maneira, colaboraram para a realização desse trabalho.

“Encomenda ao SENHOR tuas obras, e se  
realizarão teus projetos.”  
(Provérbios 16:3)

## RESUMO

Desde outrora, o ser humano tem procurado na natureza, componentes que possam obter auxílio na terapêutica ou até mesmo na cura das doenças. Os avanços em decorrência na área da ciência promoveram o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente confiáveis e eficazes, além da busca pela população, por tratamentos menos agressivos. A avaliação da atividade antioxidante de plantas tem sido uma questão importante levando em conta sua importância sobre a saúde humana, uma vez que os agentes antioxidantes naturais apresentam reduzido risco à saúde, quando comparados aos sintéticos que apresentam efeito tóxico. Da família Asteraceae da qual se destaca a espécie vegetal *Taraxacum Officinale*, popularmente conhecida como dente-de-leão, esta encontrasse discriminada entre as 71 espécies na lista do Ministério da Saúde (RENISUS), afirmadas cientificamente, para tratar distúrbios hepáticos, inflamações, tendo potencial na atividade antibactericida, citotóxica, antiviral, antiparasitária, antifúngica, além de estudos para verificar sua ação anticancerígena e de prevenção carcinogênica. O objetivo desse trabalho é analisar os efeitos biológicos de extratos aquosos, obtidos a partir das folhas, flores e raiz (frescas) dos espécimes em questão, através dos testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (Disco- difusão) contra cepas bacterianas de *E.coli* sensíveis (BW9091) e selvagens (AB1157) e detecção de saponinas. A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que os extratos aquosos estudados (folha, flor e raiz) da espécie *Taraxacum officinale* apresentam constituintes fitoquímicos que em associação com os antibióticos, apresentam certo sinergismo medicamentoso o que potencializou o efeito dos antibióticos. Em relação aos tipos de extratos estudados, apresentaram-se formação de halos de inibição para a cepa *E.coli* BW 9091 e AB1157 os extratos aquosos da flor e raiz, pois ao contrário destas o extrato da folha não obteve inibição do crescimento bacteriano. Pode-se sugerir também que os extratos aquosos da flor e da raiz da espécie deste estudo, obtém ação anticancerígena e/ou redutora de tumores, fundamentado na diminuição do estresse oxidativo das bactérias *Escherichia coli* AB1157 e BW9091.

**Palavras-chaves:** Fitoterapia. *T.officinale*. *E.coli*. Disco-difusão.

## ABSTRACT

Since then, human beings have sought in nature, components that can obtain help in therapeutics or even in curing diseases. The progress made in the area of science promoted the development of recognized and effective herbal medicines, as well as the search for the population, for less aggressive treatments. The evaluation of the antioxidant activity of plants has been an important issue taking into account its importance on human health, since the natural antioxidants present a reduced health risk, when compared to the synthetic ones that present toxic effect. From the Asteraceae family, of which the plant species *Taraxacum Officinale*, popularly known as dandelion, stands out among the 71 species in the Ministry of Health (RENISUS), scientifically affirmed, to treat liver disorders, inflammations, antibacterial, cytotoxic, antiviral, antiparasitic, antifungal activity, as well as studies to verify its anticancer action and carcinogenic prevention. The objective of this work is to analyze the biological effects of aqueous extracts obtained from the leaves, flowers and root (fresh) of the specimens in question, through antimicrobial susceptibility tests (Disco diffusion) against sensitive strains of *E. coli* (BW9091) and wild type (AB1157) and saponin detection. From the obtained results it can be concluded that the studied aqueous extracts (leaf, flower and root) of the species *Taraxacum officinale* have phytochemical constituents that, in association with the antibiotics, present some medicinal synergism which potentiated the effect of the antibiotics. Regarding the types of extracts studied, inhibition halos were formed for the *E.coli* BW 9091 and AB1157 strains, the aqueous extracts of the flower and root, because unlike these the leaf extract did not inhibit bacterial growth. It can also be suggested that the aqueous extracts of the flower and root of the species of this study obtain anticancer and / or tumor-reducing action based on the reduction of oxidative stress of *Escherichia coli* AB1157 and BW9091 bacteria.

**Key words:** Phytotherapy, *T. officinale*, *E. coli*, Disco-diffusion.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TCC	Trabalho de conclusão de curso
UEZO	Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste
LAQB	Laboratório de Análises Químicas e Biológicas
RENISUS	Relação Nacional de Plantas de Interesse ao SUS
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
SUS	Sistema Único de Saúde
ONU	Organização das Nações Unidas
OMS	Organização Mundial de Saúde
SCTIE	Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos
PNPMF	Política e Programa Nacional de Plantas Medicinal e Fitoterápico
ANOVA	Análise de Variâncias
DL50	Dose Letal
CI50	Concentração inibitória Mediana
E- coli	<i>Escherichia coli</i>
NO	Óxido Nítrico
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
UV	Ultravioleta
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
DDPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
MeOH	Metanol
T.officinale	Taraxacum officinale
cm	Centímetro
mm	Milímetro
ml	Mililitro
G	Gramma
mg/ml	Miligramma por mililitro
µg/ml	Microgramma por mililitro
nm	Nanômetro
cm <sup>2</sup>	Centímetro quadrado

$\mu\text{l}$	Microlitro
atm	Atmosfera
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFC.mL-1	Unidade Formadora de Colônia por mililitro
EUA	Estados Unidos da América
$\text{OH}^-$	Hidroxila
ERO	Espécies Reativas de Oxigênio
ERN	Espécies Reativas de Nitrogênio

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – <i>Taraxacum officinale</i>	22
Figura 2 – Partes da planta <i>Taraxacum officinale</i> (dente-de-leão)	23
Figura 3 – Princípios ativos encontrados em <i>Taraxacum officinale</i> . 3a, Taraxasterol; 3b, Taraxacosídeo	26
Figura 4 – Amoxicilina	30
Figura 5 – Cloranfenicol ( <i>Streptomyces Venezuela</i> )	30
Figura 6 – Ampicilina associada à Sulbactam	30
Figura 7 – Cefalexina	31
Figura 8 – Teste de difusão em disco	32
Figura 9 – Princípio do teste de suscetibilidade pela a de disco-difusão	33
Figura 10 – Estrutura química do grupo heterogêneo das saponinas	34
Figura 11 – Ambiente de retirada da <i>Taraxacum officinale</i>	37
Figura 12 – Infusão da folha, flor e raiz da <i>T. officinale</i> no Laboratório de Análises Químicas e Biológicas, LAQB. A, folha; B, flor; C; raiz	38
Figura 13 – Extratos aquosos da <i>T.officinale</i> . A, folha; B, flor; C, raiz	39
Figura 14 – Apresentação da técnica de difusão em disco em meio ágar nutrient, com discos arranjados, de maneira que não haja sobreposição dos halos.	44
Figura 15 – Cabine de segurança biológica do LAQB, localizado na Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste	44
Figura 16 – Semeadura na placa de petri contendo Ágar Nutrient	45
Figura 17 – Aplicação dos discos estéreis com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação	45
Figura 18 – Inserção das amostras discriminadas nas Tabelas 4, 5, 6, 7 e 8	45
Figura 19 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	49
Figura 20 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	51
Figura 21 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos	

de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	53
Figura 22 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	55
Figura 23 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	57
Figura 24 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	59
Figura 25 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	62
Figura 26 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	64
Figura 27 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> BW9091	66
Figura 28 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	68
Figura 29 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	70
Figura 30 – Correlação dos diversos tratamentos* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa <i>E.coli</i> AB1157	71
Figura 31 – Halo de inibição do crescimento bacteriano do Extrato da flor da <i>Taraxacum officinale</i> 12µl associado à amoxicilina 12µl sobre a cepa <i>E.coli</i> AB1157	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Nome popular, parte usada, rendimento e prospecção química dos extratos da família Asteraceae	23
Tabela 2 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	50
Tabela 3 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	50
Tabela 4 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	52
Tabela 5 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	52
Tabela 6 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091.	54
Tabela 7 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	54
Tabela 8 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157.	56
Tabela 9 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	56
Tabela 10 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157.	58
Tabela 11 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E.</i>	

<i>coli</i> AB1157	58
Tabela 12 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157.	60
Tabela 13 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	60
Tabela 14 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	63
Tabela 15 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091.	63
Tabela 16 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	65
Tabela 17 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	65
Tabela 18 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	67
Tabela 19 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> BW9091	67
Tabela 20 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	69
Tabela 21 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	69
Tabela 22 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i>	

AB1157	71
Tabela 23 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	71
Tabela 24 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	73
Tabela 25 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie <i>Taraxacum officinale</i> sobre a cepa de <i>E. coli</i> AB1157	73

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Ações farmacológicas da Saponina	35
Quadro 2 – Sequência de discos - Triplicata I	46
Quadro 3 – Sequência de Discos – Triplicata II	46
Quadro 4 – Sequência de Discos – Triplicata III	46
Quadro 5 – Sequência de Discos – Triplicata IV	47
Quadro 6 – Sequência de discos – Triplicata V	47

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>18</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>21</b>
<b>2.1</b>	<b>Taraxacum Officinale</b>	<b>21</b>
<b>2.1.1</b>	<b>Morfologia</b>	<b>22</b>
<b>2.1.2</b>	<b>USOS</b>	<b>23</b>
<b>2.1.3</b>	<b>Composição Química</b>	<b>25</b>
<b>2.1.4</b>	<b>Toxicidade</b>	<b>26</b>
<b>2.1.5</b>	<b>Efeitos adversos</b>	<b>27</b>
<b>2.1.6</b>	<b>Atividade Antioxidante (DPPH)</b>	<b>27</b>
<b>2.2</b>	<b>Escherichia coli</b>	<b>28</b>
<b>2.3</b>	<b>Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS)</b>	<b>28</b>
<b>2.4</b>	<b>Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)</b>	<b>29</b>
<b>2.5</b>	<b>Teste Microbiológico de Difusão em Disco</b>	<b>31</b>
<b>2.6</b>	<b>Teste para detecção das Saponinas</b>	<b>33</b>
<b>2.6.1</b>	<b>Saponinas</b>	<b>33</b>
<b>2.6.1.1</b>	<b>Propriedades gerais</b>	<b>34</b>
<b>2.6.1.2</b>	<b>Classificação</b>	<b>34</b>
<b>2.6.1.3</b>	<b>Detecção e Identificação</b>	<b>35</b>
<b>2.6.1.4</b>	<b>Ações farmacológicas</b>	<b>35</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVO</b>	<b>36</b>
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b>	<b>36</b>
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>36</b>
<b>4</b>	<b>METODOLOGIA</b>	<b>37</b>
<b>4.1</b>	<b>Obtenção dos Extratos aquosos da <i>Taraxacum Officinale</i></b>	<b>37</b>
<b>4.2</b>	<b>Preparo do Extrato</b>	<b>37</b>
<b>4.3</b>	<b>Teste de Espuma para detecção de Saponinas</b>	<b>39</b>
<b>4.4</b>	<b>Preparação de Materiais utilizados no experimento</b>	<b>40</b>
<b>4.5</b>	<b>Procedimento de utilização da autoclave</b>	<b>40</b>

<b>4.6</b>	<b>Preparação do Meio de Cultura para o Ensaio de Sensibilidade aos Antimicrobianos (Disco-Difusão)</b>	<b>41</b>
<b>4.7</b>	<b>Reativação das Cepas de <i>Escherichia Coli</i></b>	<b>41</b>
<b>4.8</b>	<b>Ensaio de Sensibilidade aos Antimicrobianos (Disco-Difusão)</b>	<b>42</b>
<b>4.9</b>	<b>Análise Estatística</b>	<b>47</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS</b>	<b>48</b>
<b>5.1</b>	<b>Atividade Antibacteriana</b>	<b>48</b>
<b>5.2</b>	<b>Correlação Antioxidante</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>DISCUSSÃO</b>	<b>74</b>
<b>6.1</b>	<b>Atividade Antibacteriana</b>	<b>74</b>
<b>6.2</b>	<b>Correlação Antioxidante</b>	<b>79</b>
<b>6.3</b>	<b>Correlação Anticancerígena</b>	<b>80</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÃO</b>	<b>83</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>84</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>89</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos antigos, o ser humano tem buscado na natureza, componentes que possam obter auxílio no tratamento ou até mesmo na cura das doenças. No início, o homem analisando os animais, percebeu que estes comiam determinadas formas vegetais quando se encontravam sentindo alguma dor ou mal-estar, isto ocorria de forma instintiva. É importante salientar que na época ainda não existia muita compreensão sobre doenças (SALEM et al., 2014). Além disso, não se sabia quais plantas podem ser ou necessitariam ser aplicadas, tudo se baseava em experiências experimentais e informações científicas apoiaram na elucidação sobre o cunho proveitoso e maléfico dos produtos provenientes das formas vegetais no combate das doenças (SILVA et al., 2018). Com o desenvolvimento das sociedades, as plantas tornaram-se um importante recurso terapêutico através do homem, uma vez que apresentam imensuráveis substâncias biologicamente operantes as quais possibilitam a síntese de incontáveis outras substâncias sintéticas para o tratamento das diversas doenças que acometem os seres humanos (GUERRA e NODARI, 2007; RIBEIRO e GUIMARÃES, 2013).

No Brasil, o emprego de formas vegetais fitoterápicas é existente, desde antes da vinda dos portugueses. Os fatos que colaboraram para este consumo podem estar relacionados com os avanços decorrentes na área da ciência o que proporcionam o desenvolvimento de fitoterápicos reconhecidamente confiáveis e eficientes, além da busca pela população por tratamentos menos agressivos.

Com o progresso da tecnologia e as recentes noções de sustentabilidade que se tornou prática frequente a partir do século XX, a utilização de formas vegetais fitoterápicas está aumentando em todo o mundo, principalmente no Brasil por sua gigantesca biodiversidade vegetal, o que instiga novos estudos a fim de se obter novos fármacos que satisfaçam as necessidades terapêuticas e, ao mesmo tempo, sejam seguras para a saúde humana, bem como a todos os âmbitos biológicos (BILA e DEZOTTI, 2003; GUERRA e NODARI, 2007).

A descoberta dos componentes existentes em plantas medicinais bem como seus mecanismos de ação biológica, vem sendo um dos maiores desafios para a química, bioquímica e a farmacologia. Dentre as propriedades farmacológicas estudadas em produtos naturais estão à ação antioxidante e antimicrobiana. A avaliação desta atividade tem sido uma questão importante levando em conta sua importância sobre a saúde humana, uma vez que os agentes antioxidantes naturais apresentam baixo risco à saúde, quando comparados

aos sintéticos que apresentam efeito tóxico (LEITE et al., 2013).

Dentro das ciências ambientais, o desenvolvimento de fármacos fitoterápicos se destaca por apresentar uma alternativa segura e sustentável, com moléculas menos agressivas ambientalmente e que capazes de suprir as necessidades terapêuticas, sem a ocorrência de resistências bacteriana e resíduo químico perseverante. Por isso, vem sendo pesquisados recentes substâncias que sejam capazes de trabalhar, principalmente, como antimicrobianos nas praticas terapêuticas e laboratoriais.

Em meio essas diversas substancias os metabólitos secundários como os óleos essenciais, os taninos, óleo-resinas e outros como terpenos, flavonoides, saponinas, ácidos orgânicos, e outros complexos químicos (LORENZI e MATOS, 2002; VELÁZQUEZ et al., 2003), se ressaltam no efeito químico que podem ser utilizada para incontáveis pesquisas relacionadas, por apresentarem propriedades diversas como anti-inflamatórias, antioxidantes, anticancerígenas, antimicrobianas e diversas mais que contribuem para a investigação (COWAN, 1999).

Nesse aspecto, a dente-de-leão, *Taraxacum officinale*, é uma planta de procedência europeia, crescendo de preferência em lugares úmidos, durante quase todo o ano. Conhecida a partir do século XV é mencionada como um diurético. Foi esquecida durante muitos anos pela medicina oficial, sendo reabilitada no início do século XX.

Algumas formas vegetais do gênero *Taraxacum*, conhecidas como dente-de-leão, são aplicadas há muito tempo na medicina popular para tratar distúrbios hepáticos e algumas doenças de mulheres, como câncer de mama e útero, e como lactantes, coleréticos, diuréticos e anti-inflamatórios (AHMAD et al., 2000; KISIEL E BARSZCZ, 2000).

As atividades farmacológicas de plantas de *Taraxacum*, em especial *Taraxacum officinale* F. Weber ex Wiggers (Asteraceae), foram em partes avaliadas até o instante. O *Taraxacum officinale* foi avaliado como contendo atividade anti- inflamatória mostrando seu efeito guardião contra pancreatite aguda induzida por colecistoquinina (SEO et al., 2005).

Além disso, mais espécies do gênero *Taraxacum* foram elucidadas para conter diversas outras atividades farmacológicas. O extrato aquoso de *Taraxacum mongolicum* foi elucidado para exercer a interação com um antibiótico do tipo das fluoroquinolinas, ciprofloxacino, que altera sua biodisponibilidade e disposição (ZHU et al., 1999). A *Taraxacum japonicum* exibiu fortes atividades de promoção antitumorais na carcinogênese de dois estágios de tumor de pele de camundongo induzido por um iniciador e um promotor, indicando atividade. O extrato etanólico de *Taraxacum officinale* possui atividades antiangiogênicas, antiinflamatórias e antinociceptiva, isto é, capaz de minimizar a produção

de NO e COX-2 e diminuir o índice de espécies reativas de oxigênio (ROS) nas células ativadas de macrófagos (TAKASAKI et al., 1999).

Esta espécie situa-se discriminada na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS); uma lista, com um elenco de formas vegetais fitoterápicas que apresentam potencial para gerar produtos de interesse dentro o Sistema Único de Saúde (SUS) e cuja finalidade é conduzir estudos e pesquisas que venham subvencionar a concepção de lista de plantas medicinais e fitoterápicas a serem proporcionados para uso da população, com segurança e eficácia para o tratamento de determinada doença (BRASIL, 2014).

Como citado esta espécie apresenta imensuráveis propriedades que a torna fonte de estudo para incontáveis pesquisas, dentre estas ressaltam as de caráter microbiológicos de ensaios bacterianos com o uso de cepas *Escherichia coli*, destacando-se as espécies do gênero *Escherichia*, as cepas selvagens AB 1157 que são proficientes em todos os genes de reparação de DNA e a BW 9091, mutante do gene *xthA*, no qual o produto, a exonuclease III atua no reparo de lesões oxidativas do DNA em fase exponencial de crescimento (SILVA et al., 2004), ambas utilizadas neste estudo.

Com isso, objetivou-se avaliar a eficácia biológica de três extratos (folha, flor e raiz) aquosos de *Taraxacum Officinale*, sobre a porção de sobrevivência de cepas mutantes e selvagens de *Escherichia coli* com associações de antibióticos discriminados na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, RENAME.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Taraxacum Officinale*

Infundáveis lendas acompanham o histórico desta espécie, como a de Thesaeus, que se alimentou de dente-de-leão após matar minotauro; a que conta que povos romanos gauleses, celtas e tribos anglo-saxônicas utilizavam esta espécie como alimento e fitoterápico e também a dos chineses, que acreditavam que oferecendo tal espécie como presente a uma pessoa estimada e se ela conseguisse apanhar um dos seus frutos alados, seria o sinal da obtenção de uma nova amizade (KISSMANN e GROTH, 1992).

Lorenzi (1991) afirma que *T.officinale* (Figura 1) é considerada uma planta daninha muito recorrente no sul do Brasil, instalando-se em gramados, pastagens, jardins, projetos com plantios e lavouras.

Conhecida normalmente como dente-de-leão e taráxaco, esta espécie possui outros nomes populares, esses como: frango, quartilho, alface-de-côco, coroa-de-monge, dente-de-leão-dos-jardins, amargosa (LORENZI, 1991), alface-de-cão, radite bravo, salada de toupeira, amor-dos-homens, soprão, chicória-louca e chicória-silvestre (PANIZZA, 1996).

Em meio às sinonímias científicas estão *Leontodon*, *Taraxacum L.*, *Taraxacum dens-leonis Desf.*, *T. alpinum C.Koch*, *T. aureum Fisch*, *T. wallichii DC*, *T.vulgare (Lam.) Shrank* (LORENZI, 1991) e *T. vulgare Lum. Schrank* (KISSMANN e GROTH, 1992).

A origem do nome genérico *Taraxacum*, de acordo com Kissmann & Groth (1992), é devido provavelmente à latinização da palavra “tarakhshagun”, da presa, que significa erva rude ou até mesmo da palavra “tarakhshagun”, que em árabe significa: chicória selvagem. Entretanto, Barroso (1991) afirma que “*Taraxacum*” é um termo originado do grego, que significa inquieto, alterado, isto é, uma planta que revoluciona, perturba a barriga, devido as suas propriedades laxativas.

O epíteto *officinale*, é um atributo do latim, empregado anteriormente para definir as plantas utilizadas pelos boticários, em suas “oficinas” para a execução de medicamentos.

Figura 1 – *Taraxacum Officinale*

Fonte: SLICHTER, 2011.

### 2.1.1 Morfologia

Da família Asteraceae da qual evidencia-se a espécie vegetal *Taraxacum Officinale*, popularmente conhecida como dente-de-leão, possui distribuição global ficando mais bem expressa nas regiões temperadas e subtropicais, em aproximadamente 1.100 gêneros e 19.000 espécies (CRONQUIST, 1981).

Panizza (1996) afirma que os frutos desta espécie assemelham-se a pequenas presas, a partir disso, deu-se sua designação popular de dente-de-leão, entretanto, Kissmann e Groth (1992) afirma que tal nome é devido ao formato das folhas, demasiadamente lobada-serreadas similar aos dentes do leão.

A raiz de *T. officinale* é fusiforme, pivotante, carnosa, bem desenvolvida, dura e quebradiça, chegando a medir 30 cm de comprimento, tendo de 5 a 20 mm de diâmetro (COSTA, 1979; KISSMANN e GROTH, 1992).

O caule é pequeno e formado por entrenós muito minimizados, sendo que alguns autores a consideraram uma espécie acaule (COSTA, 1979; LORENZI, 1991).

De acordo com LORENZI (1991), as folhas estão colocadas em roseta, e desprovidas de tricomas, oblongas ou lanceoladas, muito polimorfas, normalmente runcinadas, segmentadas ou lobadas, heterogênea e apresentam látex branco (PANIZZA, 1996).

Tabela 1 – Nome popular, parte usada, rendimento e prospecção química dos extratos da família Asteraceae

Nome científico	Nome popular	Partes usadas <sup>a</sup>	Rendimento (p/p)	Classes de constituintes químicos <sup>b</sup>								
				Al	Tr	Es	Sa	Cu	Fe	Ta	Fl	An
<i>Acanthospermum australe</i>	Carrapicho rasteiro	F	11%	+	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Achillea millefolium</i>	Mil folhas	F	9%	+	-	+	-	-	+	-	+	-
<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Alecrim-do-mato	F	11%	-	+	-	+	+	+	+	+	-
<i>Baccharis trimera</i>	Carqueja	F	8%	-	-	+	-	+	+	+	-	+
<i>Bidens segetum</i>	Picão do mato	F	10%	-	-	+	-	-	+	+	+	+
<i>Bidens segetum</i>	Picão do mato	I	8%	+	+	-	-	-	+	+	+	+
<i>Eupatorium laevigatum</i>	Camara	F	13%	+	-	+	-	-	+	+	+	-
<i>Galinsoga ciliata</i>	Picão-branco	F	12%	+	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Matricaria chamomilla</i>	Camomila	F	8%	-	+	-	-	-	+	+	+	-
<i>Yerba-mate</i>	Bolbo-do-Babio	F	18%	-	-	+	-	+	+	+	+	-
<i>Taraxacum officinale</i>	Dente-de-leão	F	7%	+	-	+	-	+	+	-	+	-

<sup>a</sup>Partes usadas: F: folhas; I: inflorescências. <sup>b</sup>Classes de constituintes químicos: Al - Alcaloides; Tr - Triterpenoides; Es - Esteroides; Sa - Saponinas; Cu - Cumarinas; Fe - Fenois; Ta - Taninos; Fl - Flavonoides; An - Antraquinonas.

Fonte: BOTUCATU, 2011.

Figura 2 – Partes da planta *Taraxacum Officinale* (dente-de-leão)



Fonte: Publicado por lasmonedasdejudas el enero 27, 2015.

## 2.1.2 USOS

Além do dente-de-leão muitas outras espécies deste grupo são amplamente utilizadas na alimentação humana como o alface (*Lactuca sativa*) e a chicória (*Chicorium intybus*) e na fitoterapia, como a Arnica (*Arnica montana*), espécies de solidago (*Solidago ssp.*), a artemisia (*Artemisia vulgaris*), a camomila (*Matricaria chamomila*), a carqueja (*Baccharis trimera*), a losna ou absinto (*Artemisia absinthium*).

Conforme Kissmann e Groth (1992), *T.officinale* tem sido usado desde os tempos remotos na alimentação humana e animal, sendo que para fins fitoterápicos chegou a ser cultivada nos jardins dos mosteiros.

Independentemente do conhecimento e aplicação popular de suas propriedades fitoterápicas, o dente-de-leão apenas foi citado nos compêndios de terapêuticas a partir do século XV, por suas propriedades diurética e também como excelente vulnerário. No início do século XX foi fortemente utilizado nas denominadas taraxocoterapias, sendo globalmente comercializado (KISSMANN e GROTH, 1992).

A partir do século XVI *T.officinale* passou a ser valorizado como droga vegetal pelos boticários, sendo considerada uma das ervas mais ativas e seguras como diurética e uma das melhores indicações para tratar transtornos hepáticos (TESKE e TRENTINI, 1997).

Atualmente, *T.officinale* localiza-se inscrito em muitas farmacopeias, como por exemplo: a Suíça, húngara, russa, polonesa, austríaca, chinesa e britânica, além de ser considerado um aromatizante natural, podendo ser inserida aos alimentos em pequenas porções (ALONSO, 2000; NEWALL et al., 2002).

Alonso (2000) menciona que as raízes podem ser torradas para execução de uma bebida que supre o café tradicional, popularmente conhecida como café-de- chicória.

*T. officinale* é vasto em minerais como o ferro, cobre e potássio, apresenta as vitaminas B1, PP e D (COSTA, 1979; TESKE e TRENTINI, 1997) e contém bem mais vitaminas A (14.000 UI / 100g) e C que a grande maioria dos vegetais (KISSMANN e GROTH, 1992; ALONSO, 2000).

Seu acúmulo em zinco confere-lhe ação antirradicais livres, sendo capaz de resguardar as células hepáticas de problemas indiretos, e seu elevado teor de potássio garante um melhor equilíbrio de espoliação pela urina. Ao ser usado em experiências com ratos, revelou moderada ação anti-inflamatória, diminuindo os acessos de dor e as desordens reumáticas (TESKE e TRENTINI, 1997).

Além das propriedades diuréticas, a espécie apresenta propriedades levemente laxantes, estimulante da liberação do suco gástrico, além da atividade colerética, colagoga, depurativa, antirreumática, antiescorbútica, podendo ser aplicada contra prisão de ventre, moléstias da pele do rosto (prurido, eczemas, escamações e vermelhidões), acidoses, cefaleias, icterícia e distúrbios de ácido úrico (LORENZI, 1991; KISSMANN e GROTH, 1992; PANIZZA, 1996; TESKE e TRENTINI, 1997).

Sobre o tecido conjuntivo, exerce uma enorme influência, aumentando sua irrigação, bem como influi sobre cálculos biliares, alterando os eventos de predisposição a esta patologia (TESKE e TRENTINI, 1997).

Esta erva também é eficiente para diminuir problemas cutâneos. Sendo suficiente utilizar apenas, externamente, compressas e cataplasmas contra acnes e furúnculos e

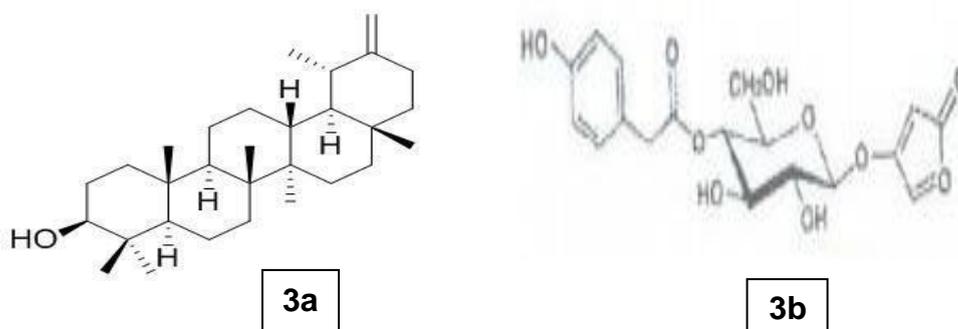
inflamações na pele provocadas por bactérias (erisipela). A ação anti- inflamatória e antibacteriana também são introduzidas na lista de benefícios da dente-de-leão, assim como, a redução da taxa de glicose no sangue. Evidências experimentais apontam que *Taraxacum officinale* modula a taxa glicêmica. Este achado é provavelmente, em parte, como resultado do elevado conteúdo de inulina contido na planta. Inulina é uma fibra de polissacarídeo, constituída de extensas cadeias de moléculas de frutose, então funciona prevenindo as variações dos parâmetros de açúcar no sangue.

Comprovações como experiência sugeriram também que *Taraxacum officinale* leva a produção do óxido nítrico. Óxido Nítrico é importante para a regulação sistêmica e defesa do sistema imunológico, porém, esta ação molecular pode ser inibida por cádmio. O extrato aquoso de *Taraxacum officinale* demonstrou abolir este efeito inibitório gerado por cádmio, e esta ação foi de maneira dose-dependente, restabelecendo a produção de óxido nítrico por macrófagos da cavidade peritoneal de ratos. Propõe-se que tal efeito ocorre principalmente como resultado da capacidade do extrato induzir a liberação do Fator de Necrose Tumoral-alfa (TNF) (TESKE e TRENTINI, 1997).

### 2.1.3 Composição Química

Dentre as substâncias extraídas da *Taraxacum Officinale* salientam-se os derivados terpênicos taraxerol, taraxasterol e o glicosídeo taraxacosídeo (Figura 3 A e B) (TESKE e TRENTINI, 1997), além de esteróis ( $\beta$ -sitosterol, estigmasterol) cauchu, resinas, indícios de essências, corpos gordurosos, levulose, um poliholósido de galactose e arabinose, ácido cafêico,  $p$ - hidróxi-fenil-acético, asparagina, tirosina (COSTA, 1979), colina, levunina e pectina (KISSMANN e GROTH, 1992), taninos, carotenoides, fitosterol, (PANIZZA, 1996),  $\beta$ - amirina, flavonoides, ácido cítrico, aminoácidos, saponinas e inulina (TESKE e TRETINI, 1997).

Figura 3 – Princípios ativos encontrados em *Taraxacum officinale*. 3a. Taraxasterol; 3b. Taraxacosídeo



Fonte: Adaptado de [www.chemfaces.com.br](http://www.chemfaces.com.br)

Na visão de Alonso (2000) as raízes contém de 25% a 38% de inulina, resina e derivados triterpênicos de sabor amargol, e lactonas sesquiterpênicas, representadas pela taraxicina.

#### 2.1.4 Toxicidade

A grande maioria dos ensaios que tem por finalidade analisar a toxicidade utilizam modelos embasados em ratos em crescimento, demonstrando desvantagens para o método como o gasto de quantidade de amostra e o alto custo. A toxicologia estuda o efeito de estabelecidas substâncias em organismos vivos (NASCIMENTO et al., 2008). O primeiro tipo de teste toxicológico a que são submetidos os compostos é o agudo-letal, que consiste de uma análise após curta exposição (24h – 48h) do composto com o organismo bioindicador. Em toxicologia, dose letal mediana (DL50 ou LD50, do inglês Lethal Dose) é a dose necessária de certa substância ou tipo de radiação para matar 50% de uma população em teste [normalmente medida em miligramas de substância por quilograma de massa corporal dos indivíduos testados (mg/kg =ppm)].

Logo, a toxicidade aguda da *Taraxacum officinale* parece ser baixa, sendo os valores de DL50 estimados em 36,8g /kg e 28,8g /kg, para a raiz e para a planta como um todo, respectivamente (NEWALL et al., 2002).

### 2.1.5 Efeitos Adversos

Efeitos adversos ou tóxicos complexos para *T. officinale*, ainda não foram mencionados quando consumido nas porções comuns ou como alimentos. Entretanto, vale observar que foi mencionada leve hipotensão, devido ao efeito diurético, e também dermatites de contato em indivíduos hipersensíveis às lactonas sesquiterpênicas do látex (ALONSO, 2000).

### 2.1.6 Atividade Antioxidante (DPPH)

De acordo com Fabri et al. (2011) o DPPH é um radical cromóforo bastante consolidado que indica pico de absorção no comprimento de onda de 515 nm em solução metanólica, porque apresenta coloração violeta intensa. Conforme o DPPH vai sendo diminuído por antioxidante, o elétron se torna emparelhado e a absorvidade para. Os antioxidantes que diminuem o radical DPPH são indicados como primários. O Extrato das folhas de *T. officinale* conteve significativa atividade antioxidante. Esse resultado afirma a ação antioxidante previamente relatada para *T. officinale*. A ação antioxidante desses extratos assemelha estar associada com a presença de compostos fenólicos, como flavonoides, presentes na maior parte das espécies estudadas. Substâncias fenólicas como ácido cafeico, ácido clorogênico e luteolina já foram identificadas nas inflorescências de *T. officinale* e tiveram as atividades antioxidantes testadas, porém esse é o primeiro relato da atividade antioxidante das folhas dessa espécie.

Conforme Dariusz Jedrejek et al. (2019), no teste DPPH, preparações apontadas por elevado teor de ácidos hidroxicinâmicos (HCAs) tiveram a maior atividade sequestradora de radicais livres, enquanto outros expressaram atividade mais fraca. No entanto, no plasma sanguíneo, o melhor efeito protetor global contra a oxidação por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> / Fe foi obtido na presença de preparações de fração enriquecida de adutos de aminoácido SL (flavonóides, lactonas sesquiterpênicas) e fração enriquecida de TIE. Nenhum dos preparados de raiz de dente-de-leão levou a lise de plaquetas sanguíneas (FARIA et. al., 2019).

Já Miłek et al. (2019) viram por do método de extração mediado por micelas, todos os extratos apresentaram ótimas propriedades antirradicais, principalmente para folhas, em semelhança com as amostras de flores. Flavonóides (especialmente derivados de luteolina) e os ácidos fenólicos prevaleceram dentre os polifenóis determinados (FARIA et. al., 2019).

## 2.2 *Escherichia coli*

As bactérias de *Escherichia coli* surgem naturalmente na flora intestinal dos animais. A grande maioria das *E. coli* são inofensivas e compõem uma parte importante do trato intestinal humano saudável, havendo uma relação simbiótica e proporcionando uma série de benefícios. No entanto, algumas *E. coli* são patogênicas, podendo ser transmitidas através de água ou alimentos corrompidos ou através do contato com animais ou pessoas (ISHII & SADOWSKY, 2008).

*E. coli*, pertence à família *Enterobacteriaceae* e ao gênero *Escherichia*, morfológicamente apresentam forma em bastonetes curtos, e no processo de coloração de Gram, apresentam atividade negativa. Não apresentam formação de esporos e suas dimensões estão na faixa 1,1 a 1,5 µm por 2 a 6 µm; a maior parcela de seus integrantes apresentam movimentos devido à existência de flagelos peritríqueos. Seu crescimento ótimo está na faixa dos 37 °C. Apresenta metabolismo fermentativo e respiratório, no entanto, evidencia-se por apresentar metabolismo anaeróbico facultativo (CAMPOS e TRABULSI, 2002).

Entre as espécies do gênero *Escherichia*, evidencia-se as cepas selvagens AB 1157 que são proficientes em todos os genes de reparo de DNA e a BW 9091, mutante do gene *xthA*, no qual o produto, a exonuclease III funciona no reparo de danificações oxidativas do DNA em fase exponencial de crescimento (SILVA et al., 2004).

## 2.3 Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS)

A utilização de medicamentos obtidos a partir de formas vegetais fitoterápicas para a restauração e manutenção da saúde, corresponde a um importante recurso para a sociedade e durante muito tempo foi à base da terapia no combate de imensuráveis enfermidades.

Atualmente, o contínuo interesse do meio científico no estudo dos medicamentos fitoterápicos, tem assistido de forma bem mais segura à elaboração de drogas à base de ervas. Os habituais medicamentos naturais embora se encontrem em uso internalizado em incontáveis partes do mundo, mesmo apontados como eficientes, podem ser responsáveis por diversos efeitos adversos. Com isso, nos últimos anos, tem-se verificado um vasto aumento nos estudos que evidenciam o que se conhece experimentalmente, visto que, a medicina popular é rica em exemplos de plantas utilizadas para diversos fins, que substituem, muitas vezes, a prescrição médica.

Nesse aspecto, emerge em 2009 a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS); uma lista, com um elenco de plantas medicinais que apresentam potencial para gerar produtos de interesse ao Sistema Único de Saúde e cuja finalidade é guiar estudos e pesquisas que venham subvencionar a concepção de lista de plantas medicinal e fitoterápica a serem proporcionados para uso da população, com segurança e eficiência para o tratamento de determinada doença (BRASIL, 2017).

Em meio a 71 espécies listadas através Ministério da Saúde, situa-se a deste estudo, a *Taraxacum officinale*, utilizadas pela sabedoria popular e afirmadas cientificamente, para distúrbios hepáticos, inflamações, atividade antibactericida, respectivamente, além de estudos para verificar sua ação anticancerígena e de prevenção carcinogênica.

Atendendo uma das diretrizes da finalidade da RENISUS que é sua revisão periódica, o Ministério da Saúde, por meio da Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE), lançou Consulta Pública N° 37, de cinco de Setembro de 2017, de revisões de monografias de plantas medicinais de interesse ao SUS conforme a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, aprovada por meio do Decreto n.º 5.813, de 22 de junho de 2006, e o Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos (PNPMF), aprovado por meio da Portaria Interministerial n.º 2.960, de nove de dezembro de 2008. Desta forma, almeja-se capacitar e consolidar o documento com o recebimento de colaborações do público interessado e atualizar a lista atualmente em vigor de 2009 (BRASIL, 2017).

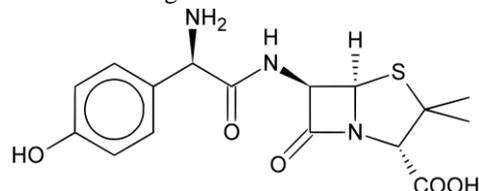
#### **2.4 Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)**

Medicamentos essenciais são aqueles que satisfazem as necessidades primárias de cuidados à saúde da população. No Brasil, o Ministério da Saúde criou a Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), a fim de atender aos princípios iniciais do SUS, isto é, a totalidade, a equidade e a integralidade, configurando-se como a relação dos medicamentos proporcionados por meio de políticas públicas e recomendados para os tratamentos das doenças e danos que acometem a população do Brasil (BRASIL, 2017).

Alguns medicamentos atendem as diversas variáveis no contexto da promoção, proteção, prevenção de danos, diagnóstico, tratamento, recuperação e manutenção da saúde da população e estão em conformidade com os objetivos das diretrizes das Nações Unidas (ONU) e, portanto, um dos pilares da elaboração e implementação de políticas nacionais de saúde (BRASIL, 2017).

Nesta relação, encontram-se discriminados os antibióticos utilizados neste estudo, os quais são listados com suas estruturas químicas.

Figura 4 – Amoxicilina



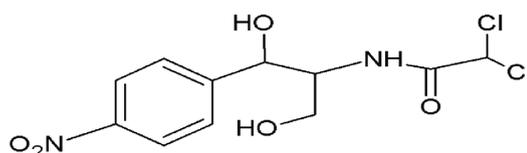
Fórmula Molecular: C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S

Nomenclatura IUPAC: (2S, 5R, 6R)- 6-[[ (2R)-2-amino- 2-(4-hydroxyphenyl)- acetil]amino]- 3,3-dimethyl- 7-oxo- 4-thia- 1-azabicyclo[3.2.0]heptano- 24-carboxylic acid

Família: β-lactâmicos / Classe: Penicilina de amplo espectro

Fonte: BPR - *Guia de Remédios* 9ª ed. São Paulo: Escala. 2009

Figura 5 – Clorafenicol (Streptomyces Venezuela)



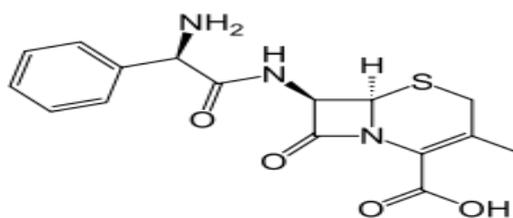
Fórmula Molecular: C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>

Nomenclatura IUPAC: 2,2-dicloro-N-[1,3-dihidroxy-1-(4-nitrofenil)propan-2- yl]acetamida

Família: Anfencol

Fonte: BPR - *Guia de Remédios* 9ª ed. São Paulo: Escala.

Figura 6 – Ampicilina associada à Sulbactam



Fórmula Molecular: C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>N<sub>3</sub>NaO<sub>4</sub>S

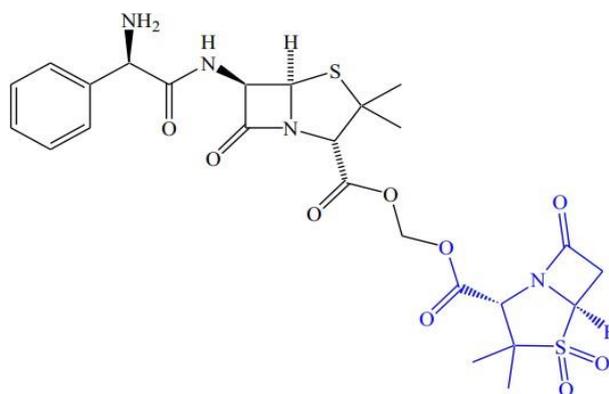
Nomenclatura IUPAC:

monossódico (2S, 5R, 6R)- 6 - [(R)- 2-amino-2- fenilacetamido] -3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1- azabicyclo [3.2.0 ] heptano-2-carboxilato.

Família: β-lactâmicos / Classe: Penicilina de amplo espectro

Fonte: BPR - *Guia de Remédios* 9ª ed. São Paulo: Escala. 2009

Figura 7 – Cefalexina

Fórmula Molecular: C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>SNomenclatura IUPAC: ácido (6*R*, 7*R*)-7-[(2*R*)-2-amino-2-fenilacetamido]-3-metil-8-oxo-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]-oct-2-eno-2-carboxílico.

Família: β-lactâmicos / Classe: Cefalosporina de primeira geração

Fonte: *BPR - Guia de Remédios* 9ª ed. São Paulo: Escala.

Esta seleção de medicamentos essenciais é proposta da Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma das estratégias da sua política de medicamentos para promover o acesso e uso seguro e racional de medicamentos (BRASIL, 2017).

O propósito da relação de medicamentos essenciais é resguardar a saúde dos indivíduos porque previne o uso de fármacos cuja efetividade terapêutica é suspeita ou não comprovada por evidências científicas, no qual o perfil de risco iminente à saúde pode ser maior do que os benefícios propiciados, de associações de medicamentos sem justificativa clínica ou de dualidade de fármacos para a mesma indicação clínica (BRASIL, 2017).

## 2.5 Teste Microbiológico de Difusão em Disco

O teste de suscetibilidade aos antimicrobianos é uma das provas mais importantes do laboratório de microbiologia clínica, pois avalia a suscetibilidade dos microrganismos contra diferentes agentes antimicrobianos. Os resultados destes testes influenciam diretamente na escolha da terapêutica antimicrobiana, e, por isso, a realização do teste sem controle adequado de qualidade poderá determinar o uso de um antimicrobiano inadequado, com consequente falha terapêutica e risco para o paciente.

O contínuo aparecimento de novos mecanismos bacterianos de resistência a antimicrobianos tem gerado uma corrida das indústrias farmacêuticas para a produção e lançamento de um número crescente de novos compostos, tornando complexa a realização dos testes de suscetibilidade.

Em virtude da complexidade dos mecanismos de resistência, a seleção das drogas

apropriadas tanto para o teste de suscetibilidade quanto para a terapia antimicrobiana torna-se uma missão cada vez mais difícil, podendo levar ao aumento da morbidade e da mortalidade dos pacientes tratados incorretamente.

O método de disco-difusão foi idealizado por Bauer et al. (1966), e desde então é um dos métodos mais utilizados nos laboratórios de microbiologia no Brasil. O princípio deste método baseia-se na difusão, através do ágar, de um antimicrobiano impregnado em um disco de papel-filtro. A difusão do antimicrobiano leva à formação de um halo de inibição do crescimento bacteriano, cujo diâmetro é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC). Esse método é qualitativo, ou seja, permite classificar a amostra bacteriana em suscetível (S), intermediária (I) ou resistente (R) ao antimicrobiano.

O teste de disco-difusão é um método prático, de fácil execução e idealizado para bactérias de crescimento rápido. Os reagentes são relativamente econômicos, não há necessidade de equipamentos especiais, além de apresentar grande flexibilidade na escolha do número e tipo de antimicrobianos a serem testados. Entretanto, este método apresenta algumas limitações, como a dificuldade na avaliação da suscetibilidade aos antimicrobianos que se difundem mal através do ágar, como, por exemplo, a polimixina. O teste de bactérias nutricionalmente exigentes requer suplementação dos meios de cultura para que seja realizado. Além disso, os resultados representam apenas um valor qualitativo (S, I ou R) e apresentam dificuldades na interpretação de microrganismos anaeróbios ou fastidiosos.

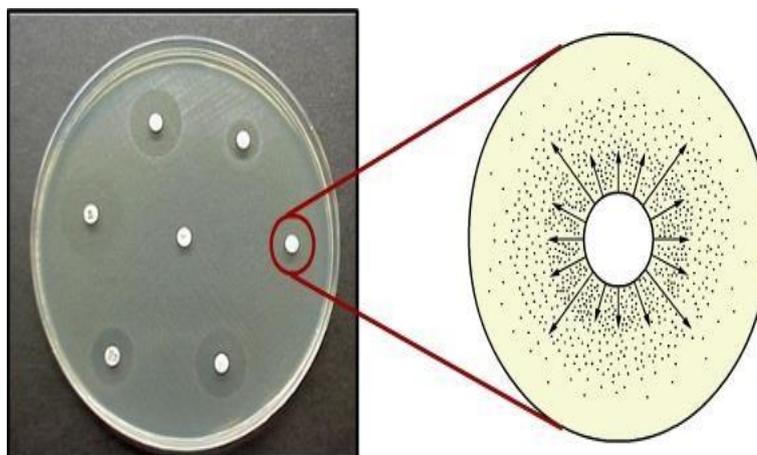
Na utilização do teste disco-difusão, pequenas variações no procedimento ou na qualidade do material utilizado podem levar a resultados falsos, e, portanto, se faz necessário um controle periódico de qualidade para garantir a confiabilidade do teste.

Figura 8 – Teste de difusão em disco



Fonte: [anvisa.gov.br](http://anvisa.gov.br)

Figura 9 – Princípio do teste de suscetibilidade pela metodologia do disco-difusão



Fonte: anvisa.gov.br

## 2.6 Teste para detecção das Saponinas

### 2.6.1 Saponinas

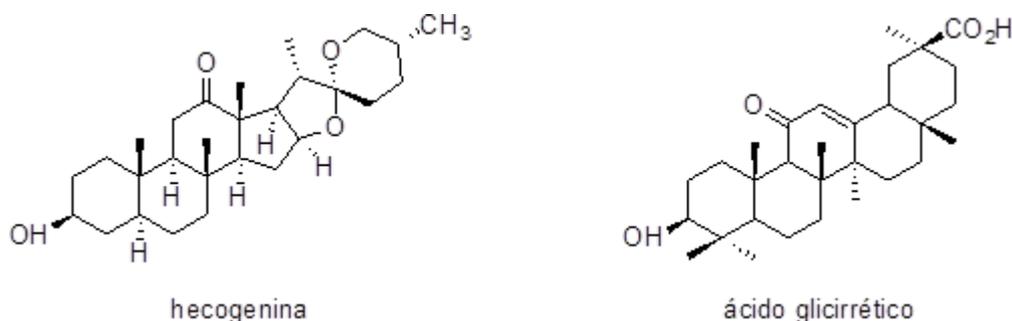
As saponinas ou saponosídeos são heterosídeos do metabolismo secundário vegetal, apresentados pela formação de espuma, tendo propriedades detergentes e surfactantes. São componentes formados por uma parte hidrofílica e uma parte lipofílica. Na identificação laboratorial das saponinas podem ser executados os testes de hemólise sanguínea (in vitro). As saponinas são componentes importantes para ação de muitas substâncias vegetais, destacando-se aquelas tipicamente utilizadas como expectorantes e diuréticas.

Os glicosídeos saponosídicos têm este nome devido ao fato de construírem espuma farta quando agitados com água (do latim sapo= sabão). Tem gosto amargo e acre, os medicamentos que os contém comumente são estimulatórios (provocam espirros) e irritantes para as mucosas.

São componentes não nitrogenados que se dissolvem em água gerando soluções afrógenas (espumantes), por diminuição da tensão superficial do líquido.

Quimicamente, compõem um grupo dissimilar sendo classificados em glicosídeos saponosídicos do tipo esteroide (p.exemplo: hecogenina) e do tipo triterpênico (p. exemplo: ácido glicirretínico).

Figura 10 – Estrutura química do grupo heterogêneo das saponinas



Fonte: COSTA, Aloísio Fernandes, Farmacognosia 3<sup>o</sup> Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

A identificação das saponinas em uma amostra vegetal pode ser feita de maneira simples, com base na série da ação tensoativa de seus glicosídeos: investiga-se o poder espumante ou hemolítico de um macerado ou decocção aquosa da droga.

### 2.6.1.1 Propriedades gerais

Em meio aquoso as saponinas formam vasta quantidade de espuma, sendo dessa forma, possuem uma elevada solubilidade em água. Já em solventes orgânicos apolares é insolúvel. Elas apresentam sabor amargo e acre (testado nesse estudo em laboratório através de uma análise sensorial) e podem causar desordem nas membranas celulares.

Estes glicosídeos são utilizados na indústria farmacêutica pelo fato de formarem o “starting point” para a semi-síntese de drogas esteroides, além disso, muitos possuem atividade farmacológica e são empregados na fitoterapia e na indústria de cosméticos, e como adjuvantes também na indústria farmacêutica.

Em soluções aquosas formam espuma insistente e abundante (como notado nos extratos aquosos utilizados nesse estudo), que é resistente a ação de ácidos minerais diluídos, sendo esta a propriedade que mais define esse grupo de componentes da qual é decorrente o seu nome.

### 2.6.1.2 Classificação

- a)- Saponinas esteroidais: esqueleto com 27 carbonos, tetracíclico;
- b)- Saponinas triterpênicas: esqueleto com 30 carbonos, pentacíclico;

### 2.6.1.3 Detecção e Identificação

A detecção é realizada a partir de suas propriedades químicas e físico-químicas: pela reação com ácidos minerais, aldeídos aromáticos ou sais de metais produzindo corados, pela diminuição da tensão superficial e/ou pela ação hemolítica. Estes testes podem ser qualitativos ou quantitativos.

.O teste realizado durante a prática deste estudo compreende ao Teste espuma, entretanto também tem o Teste de índice de espuma ou afrosimétrico, onde ambos são testes semiquantitativo.

### 2.6.1.4 Ações Farmacológicas

Quadro1 – Ações farmacológicas da Saponina

Ações Farmacológicas da Saponina
Atividade Citotóxica
Atividade Antitumoral
Atividade Antiviral
Atividade Antiparasitária
Atividade Antibacteriana / antimicrobiológica
Atividade Antifúngica / antilevedura
Atividade Anti-inflamatória
Atividade Moluscicida
Atividade Hemolítica

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo Geral

Analisar os efeitos biológicos de extratos aquosos, obtidos a partir das folhas, flores e raíz (frescas) de espécimes de *Taraxacum Officinale* conhecida através nome popular de Dente-de-Leão.

#### 3.2 Objetivo Específico

- Conceber extratos aquosos a partir das folhas, flores e raíz (frescas) de espécimes de *Taraxacum Officinale*.
- Estudar os efeitos do extrato natural sobre as frações de sobrevivências de cepas mutantes de *Escherichia coli* BW 9091 e selvagens AB 1157.
- Investigar o efeito de extratos aquosos de *Taraxacum Officinale* sobre a ação de antibióticos discriminados na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) através do método de difusão em disco sobre cepas mutantes de *Escherichia coli* BW 9091 e selvagens AB 1157.
- Examinar o comportamento de extratos aquosos de *Taraxacum Officinale* subordinados às condições experimentais de estresse oxidativo.
- Comparar os resultados obtidos nas análises dos extratos aquosos obtidos a partir das folhas, flores e raíz (frescas) de espécimes de *Taraxacum Officinale*.
- Correlacionar os resultados obtidos nas análises dos extratos aquosos obtidos a partir das folhas, flores e raíz (frescas) de espécimes de *Taraxacum Officinale*, através da indução do stress oxidativo da bactéria *E.coli* de cepas mutantes (BW 9091) e selvagens (AB1157) com suas ações farmacológicas descritas em literaturas.

## 4. METODOLOGIA

### 4.1 Obtenção dos Extratos aquosos da *Taraxacum Officinale*

O conteúdo utilizado da planta *Taraxacum Officinale* – raíz, folha e flor, em seu estado fitopatológico íntegro – teve sua amostra adquirida no Mercadão de Madureira, BOX 22, na Dna Célia & Fátima, no Bairro de Madureira, na Zona Norte do Município do Rio de Janeiro, entre 14 (quatorze) horas e 15 (quinze) horas.

A amostra da espécime estava acondicionada em temperatura ambiente dentro de um recipiente plástico ao qual a planta foi transportada para o Laboratório de Análises Químicas e Biológicas (LAQB), localizado na Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste (UEZO), onde foi executada a higienização e alocação em um freezer adequado para subsequente seleção e extração.

Figura 11 – Ambiente de retirada da *Taraxacum Officinale*



Fonte: próprio autor

### 4.2 Preparo do Extrato

As folhas, flores e raíz da *T. Officinale* foram separadas, higienizadas com água destilada, em um seu recipiente e fragmentada com auxílio de uma tesoura, de maneira que o material se equiparasse em um padrão médio de um cm<sup>2</sup>.

Foi pesada em balança semi analítica (Bel Engineering, Modelo M 5202, Itália), a quantidade de 500 gramas e postas separadamente cada parte da planta em infusão em três recipientes. As folhas em uma bandeja de polietileno, as flores e raíz, cada qual, em um béquer grande de vidro por 60 minutos em 1000 ml de água destilada aquecida a 80°C, como demonstrado na figura 12.

Figura 12 – Infusão da folha, flor e raiz da *T. officinale* no Laboratório de Análises Químicas e Biológicas, LAQB. A, folha; B, flor; C; raiz



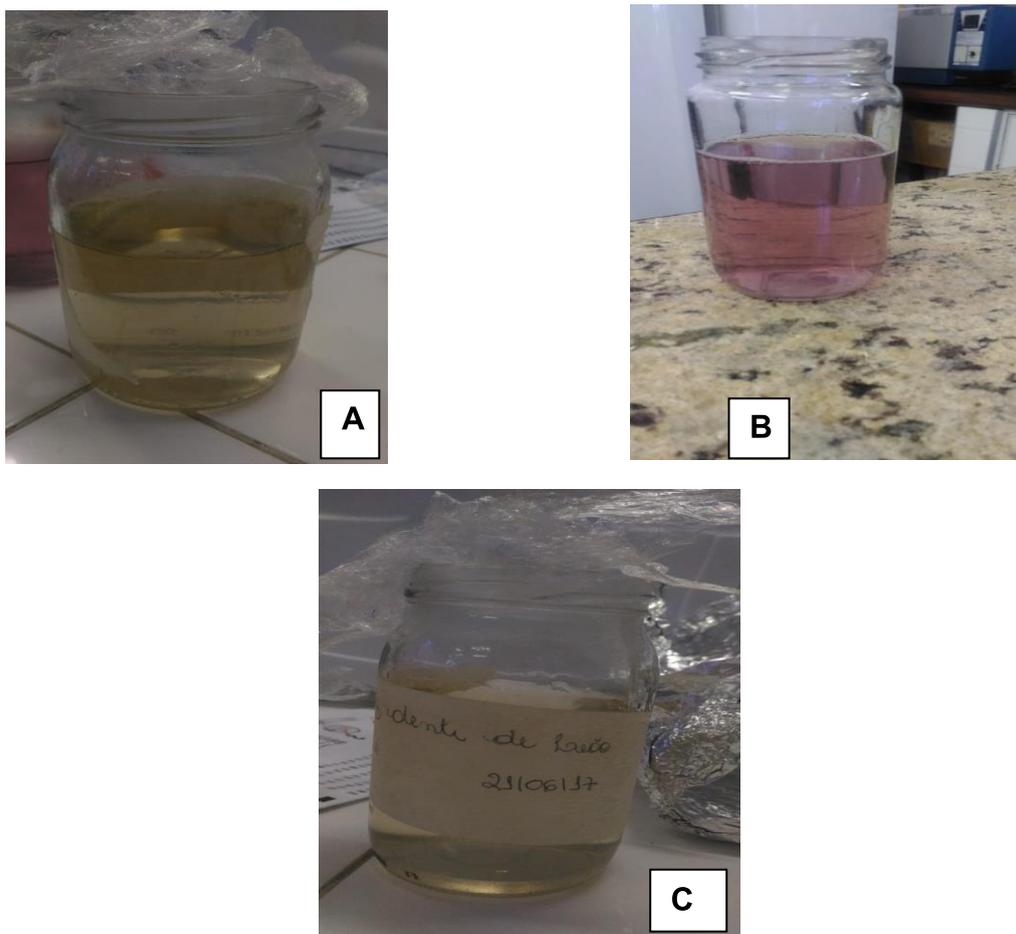
Fonte: próprio autor

A concentração final do extrato desidratado foi de 50 mg/ml.

Os extratos (folha, flor e raiz) foram peneirados, com o intuito de remover as partículas grosseiras e de desinteresse do estudo, com o auxílio de uma peneira de polipropileno e tela de poliéster, filtrado por gravidade em papel filtro qualitativo, para extração de partículas em suspensão. Em seguida, as amostras foram vertidas para três vidros âmbar, um com o extrato da folha, um com o da flor e outro com o da raiz, ambos com capacidade volumétrica de 1000 ml.

Desses extratos foi retirada uma amostra de 100 ml (de cada: flor, folha e raiz) em frascos menores e separadas alíquotas de cada amostra, com o intuito de facilitar o manuseio nos experimentos e garantir um estoque maior caso ocorra algum acidente com um dos frascos contendo amostra.

Figura 13: Extratos aquosos da *T. officinale*. A, folha; B, flor; C, raíz



Fonte: próprio autor

### 4.3 Teste de Espuma para detecção de Saponinas

O teste de espuma foi realizado com uma amostra de 30 ml dos extratos aquosos em decocção obtidos das folhas, flores e raíz da *T. officinale*. Essa amostra foi vertida para três tubos falcon (cada parte em seu tudo) com posterior agitação enérgica do extrato filtrado, em sentido vertical por cerca de 15 segundos e marcado com caneta retro-projetora a altura da espuma.

Em seguida, as soluções foram deixadas em repouso por 15 minutos, observando a presença de espuma persistente.

- Reação positiva para saponinas: permanência da espuma;
- Reação negativa para saponinas: desaparecimento da espuma;

#### **4.4 Preparação de Materiais utilizados no experimento**

Para a realização dos procedimentos experimentais foi necessário à utilização de vidrarias e materiais, porém esses materiais necessitam de uma preparação específica para serem operados nos experimentos.

##### Materiais usados:

- 18 placas grandes
- 20 swab
- Ponteiras de 100 µl
- 40 ponteiras de 200 µl
- 15 ponteiras de oito µl
- 80 discos de papel
- 8 (oito) ependrofs
- Tubos de ensaio com rosca contendo soro fisiológico
- 2 (dois) pinças
- 2 (dois) pipetas volumétricas
- Alças bacteriológicas

Todos esses materiais citados acima foram devidamente embalados com papel ofício e fita crepe, separadamente, e devidamente etiquetados com nome da vidraria ou material e suas respectivas quantidades. Após o empacotamento, todos os utensílios foram colocados na autoclave durante 15 minutos para a esterilização dos mesmos.

#### **4.5 Procedimento de utilização da autoclave**

Primeiramente deve-se checar a quantidade de água contida no cesto do equipamento – a água deve estar no nível da cruzeta- caso não esteja, deve-se ser completada até que chegue a cruzeta-. Posteriormente, o material é colocado dentro da autoclave com auxílio de potes de plástico e o equipamento é fechado – na diagonal- (suas manoplas não podem estar apertadas demais, pois dificulta a posterior abertura do equipamento). O equipamento é ligado e quando o mesmo pega pressão, a válvula é fechada.

Em seguida, é observada a chave de comando de controle da temperatura, quando essa temperatura atingir 1(atm) atm. é marcado 15 minutos para que a esterilização seja realizada.

Ao passar do tempo determinado, a válvula é aberta vagarosamente, até que toda pressão se perca, e então as manoplas são abertas (na diagonal) e o material esterilizado é retirado com o auxílio de uma luva térmica.

#### **4.6 Preparação do Meio de Cultura para o Ensaio de Sensibilidade aos Antimicrobianos (Disco-Difusão)**

##### Materiais usados:

- 2 (dois) vidros Âmbar de 400 ml
- 1 (um) Erleymmayer de 200 ml
- 1 (um) Béquer grande
- 1 (um) proveta de 500 ml
- 1 (um) vidro de relógio
- 1 (um) bastão de vidro
- 1000 ml de água destilada
- 1 (um) pipeta volumétrica
- 18 placas de petri
- Pipetador automático

Foram pesados 28g do meio desidratado Ágar Nutrient na balança semi analítica (Bel Engineering, Modelo M 5202, Itália), com o auxílio da vidraria, vidro de relógio e adicionado 1000 ml de água destilada (medida em uma proveta) e homogeneizado, com ajuda do bastão de vidro dentro de um béquer, para inteira dissolução do meio de cultura.

A solução preparada foi vertida para 2 (dois) vidros âmbar com rosca, ambos com capacidade de 400 ml e um erleymmayer com capacidade de 200 ml. As três vidrarias foram embaladas e autoclavada a 121°C por 15 minutos a pressão de 1(atm). Em uma cabine de segurança biológica (Pachane, Modelo, Pa 400 ECO, Brasil), 50 mL do meio de cultura foi vertido em 18 placas de Petri de vidro de 150 mm, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, e resfriados a temperatura ambiente, até sua solidificação, onde foram posteriormente guardadas em geladeira a temperatura de 5 °C até o momento da utilização nos experimentos.

#### **4.7 Reativação das Cepas de *Escherichia Coli***

Para a ativação das cepas bacterianas, com o adjutório de uma alça bacteriológica

descartável de 10 µL, as amostras de cada bactéria foram retiradas do estoque refrigerado (Glicerol 15 % em Caldo TSB - Tripitona de Soja; Himedia®, M 011 - 500 G) do LAQB, colocadas cada qual em um tubo de ensaio com tampa com rosca contendo 3 (três) mL de caldo soja tripticaseína. Os tubos foram oclusos, homogeneizados e incubados em estufa bacteriológica (Solab, Modelo SL-101, Brasil) a 37 °C por 24 horas.

Atingindo o tempo de incubação, o conteúdo ativado foi semeado por esgotamento em placa de Petri de 90 mm, obtendo meio ágar Nutrient, com auxílio de alça bacteriológica de 10 µL e, repetidamente, colocado a incubação. Depois do período de 24 horas, dentro da cabine de segurança biológica, as amostras de unidades formadoras de colônias (UFC) foram apanhadas com a ajuda da alça bacteriológica descartável de 10 µL e introduzidas em tubos de ensaio com tampa, contendo 5 (cinco) ml de solução fisiológica (NaCl 0,9 %), até alcançar o padrão de turvação da escala de McFarland, cujo índice 0,5 equivale a  $1,5 \times 10^8$  UFC.mL<sup>-1</sup>, viabilizando o nível de diluição propício para semeadura por esgotamento nas placas de Petri de 152 mm com auxílio de swabs descartáveis nos experimentos.

#### **4.8 Ensaio de Sensibilidade aos Antimicrobianos (Disco-Difusão)**

Na ponderação da sensibilidade das cepas bacterianas mediante a ação dos extratos, usou-se o ensaio de suscetibilidade a antimicrobianos, correspondente ao procedimento mais fornecidos nos laboratório de microbiologia, em razão da permissão da análise da suscetibilidade dos microrganismos contra diferentes agentes antimicrobianos, de modo ágil e seguro.

##### Materiais usados:

- Ponteira
- Pipetas de 8µl, 12µl e 24µl
- Solução salina
- 1 eppendorf com o antibiótico amoxicilina (50mg)
- 1 eppendorf com cloreto estanhoso (5mg)
- 1 eppendorf com peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)
- 1 eppendorf com extrato aquoso da *T. officinale*
- Soro fisiológico
- 2 Tubos de ensaio com rosca ( Com E.coli BW9091 e E.coli AB1157)
- Disco de papel

- Swab
- Pinça
- Discos impregnados dos antibióticos: Cefalexina (30µg/ml), Cloranfenicol (30µ/ml) e Ampicilina + Sulbactam (20µg/ml).

Na condução do experimento, para o extrato aquoso, usaram-se bactérias da espécie *Escherichia coli*, cepas AB 1157 e BW 9091, preliminarmente ativadas como descrito no item 9.6. No plaqueamento, utilizaram-se placas de Petri de 150 mm, contendo 50 mL de meio ágar, como descrito no item 9.5. Foram preparadas 18 placas, separadas em 5 (cinco) grupos, todos em triplicatas; a cada placa adicionou-se cinco discos, exceto as do último grupo, no qual se posicionou apenas 3 discos, totalizando 23 discos. Os discos contendo os antibióticos Cloranfenicol, Cefalexina e Ampicilina com associação de Sulbactam apresentam concentrações pré-determinadas, na ordem de 30 µg.mL<sup>-1</sup> para os discos impregnados com Cloranfenicol, 30µg.mL<sup>-1</sup> para os discos impregnados com Cefalexina e; 20 µg.mL<sup>-1</sup> para discos impregnados com Ampicilina + Sulbactam. Os discos contendo Amoxicilina foram previamente preparados no LAQB, a partir de comprimidos comerciais do laboratório Nequímica na concentração de 250 mg.5mL<sup>-1</sup>. A solução foi preparada a partir da pesagem de 50mg do antibiótico em formulação de pó (comprimido previamente triturado) e feita a dissolução em um eppendorf em 1 (um) mL de água destilada. De maneira igualitária foi pesado 5mg do cloreto estanhoso (apresentação farmacêutica em pedras) e feita a dissolução em 1 (um) mL de água destilada. Ambos foram agitados manualmente para a completa dissolução.

Foram preparados também eppendorfs contendo peróxido de hidrogênio na concentração de 3% e as amostras dos extratos aquosos da *T. officinale* (folha, flor e raiz).

Após estes procedimentos, as placas de Petri de 150 mm, previamente preparadas com meio ágar nutriente como discriminado no item 9.5, foram retiradas da geladeira, dispostas sobre a bancada, por 30 minutos, até que atingissem a temperatura ambiente e o excesso de umidade fosse absorvido, então foram marcadas com caneta para marcação, dispostas em cada grupo, numerados os discos e datadas. Enquanto esse procedimento era realizado, a cabine de segurança biológica (Pachane, Modelo, Pa 400 ECO, Brasil) (Figura15) foi higienizada com álcool 70 e mantida em sobre luz UV durante 15 minutos para esterilização do local. Após esse intervalo, na cabine de segurança biológica (Pachane, Modelo, Pa 400 ECO, Brasil), com o auxílio de swabs estéreis, as cepas bacterianas previamente ativadas como discriminado no item 9.6, foram inoculadas no

formato de estrias na superfície do ágar em três direções, permitindo assim, o completo esgotamento da superfície do meio de cultura (Figura 16). Após esta etapa, foram aplicados os discos de papel estéreis e os discos impregnados com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação (Figura 17). Todos os discos foram pressionados suavemente permitindo o contato total com a superfície do ágar. As distâncias de 30 mm entre um disco e outro e de 15 mm da margem da placa foram mantidas, impedindo a superposição dos halos de inibição, como representado na figura 14.

Após a aplicação dos discos estéreis, foram aplicadas as amostras (Figura 18), com o auxílio de pipetas de 24 $\mu$ l, 12 $\mu$ l e 8 $\mu$ l, e suas determinadas concentrações, que estão devidamente discriminadas nas tabelas 4,5,6,7,e 8.

Figura 14 – Apresentação da técnica de difusão em disco em meio ágar nutricional, com discos arranjados, de maneira que não haja sobreposição dos halos



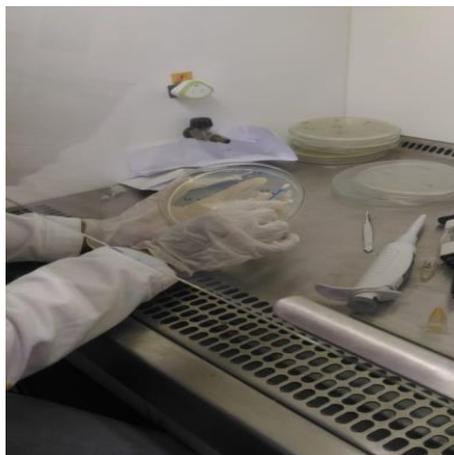
Fonte: Silva, Edson de Jesus; Estudo dos Efeitos Biológicos de Extratos Aquosos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, sobre a fração de sobrevivência de cepas mutantes e selvagens de *Escherichia coli*. / Edson de Jesus da Silva. - Rio de Janeiro, 2018.

Figura 15 – Cabine de segurança biológica do LAQB, localizado na Fundação Centro Universitário Estadual da Zona Oeste



Fonte: próprio autor

Figura 16 – Semeadura na placa de petri contendo Ágar Nutrient



Fonte: próprio autor

Figura 17 – Aplicação dos discos estéreis com auxílio de uma pinça estéril para evitar contaminação



Fonte: próprio autor

Figura 18 – Inserção das amostras discriminadas nas Tabelas 4, 5, 6, 7, e 8



Fonte: próprio autor

A performance do ensaio de inibição do crescimento por disco-difusão, encontra-se esquematizado nas Tabelas 4,5,6,7 e 8. Ao término da sementeira e inserção das amostras

representada nesta etapa, as placas foram armazenadas em estufa bacteriológica (Solab, Modelo SL-101, Brasil) por 24 horas a 35°C. Na leitura dos resultados utilizamos uma régua para medição de halos em antibiograma (Laborclin, Brasil).

Quadro 2 – Sequência de discos - Triplicata I

<b>Sequência de discos - Triplicata I</b>	
Disco 1	24µl de solução salina a 0,9%
Disco 2	24µl de extrato aquoso
Disco 3	12µl de extrato aquoso
Disco 4	12µl de amoxicilina a 50mg/ml
Disco 5	12µl de extrato aquoso + 12µl de amoxicilina a 50mg/ml

Quadro 3 – Sequência de Discos – Triplicata II

<b>Sequência de Discos – Triplicata II</b>	
Disco 6	Disco impregnado de Cefalexina 30µg/ml
Disco 7	Disco impregnado de Cefalexina 30µg/ml + 12µl de extrato aquoso
Disco 8	24µl de amoxicilina a 50mg/ml
Disco 9	Disco impregnado de Cloranfenicol a 30µl/ml
Disco 10	Disco impregnado de Cloranfenicol a 30µl/ml + 12µl do extrato aquoso

Quadro 4 – Sequência de Discos – Triplicata III

<b>Sequência de Discos – Triplicata III</b>	
Disco 11	Ampicilina associada à Sulbactam a 20µl/ml
Disco 12	Ampicilina associada à Sulbactam a 20µl/ml + 12µl de extrato aquoso
Disco 13	24µl de cloreto estanho (SnCl <sub>2</sub> )
Disco 14	12µl de cloreto estanho (SnCl <sub>2</sub> )
Disco 15	8µl de cloreto estanho (SnCl <sub>2</sub> )

Quadro 5 – Sequência de Discos – Triplicata IV

Sequência de Discos – Triplicata IV	
Disco 16	12µl de cloreto estanho + 12µl de extrato aquoso
Disco 17	8µl de extrato aquoso
Disco 18	12µl de extrato aquoso + 12µl de peróxido de hidrogênio a 3% (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Disco 19	12µl de peróxido de hidrogênio + 12µl de cloreto estanho
Disco 20	8µl de peróxido de hidrogênio + 8µl de cloreto estanho + 8µl de extrato aquoso

Quadro 6 – Sequência de discos – Triplicata V

Sequência de discos – Triplicata V	
Disco 21	24µl de peróxido de hidrogênio
Disco 22	12µl de peróxido de hidrogênio
Disco 23	8µl de peróxido de hidrogênio

Toda metodologia descrita anteriormente foram repetidas para todas as partes da planta, estando ambas obedecendo todos os critérios e procedimentos citados desde o item 9.2 ao item 9.7.

#### 4.9 Análise Estatística

Os resultados obtidos foram analisados com auxílio do GraphPad (GraphPad Software, Inc., Estados Unidos) um software de estatística a partir dos testes de Análise de Variância (ANOVA). As médias aritméticas foram comparadas na intenção de avaliar a proporcionalidade entre volume, tratamentos dos componentes associados ao extrato aquoso de *T. officinale* e o diâmetro do halo de inibição. E o teste de Tukey-Kramer comparou as médias aritméticas dos halos de inibição dos diferentes tratamentos, estabelecendo a significância para  $p < 0,05$ .

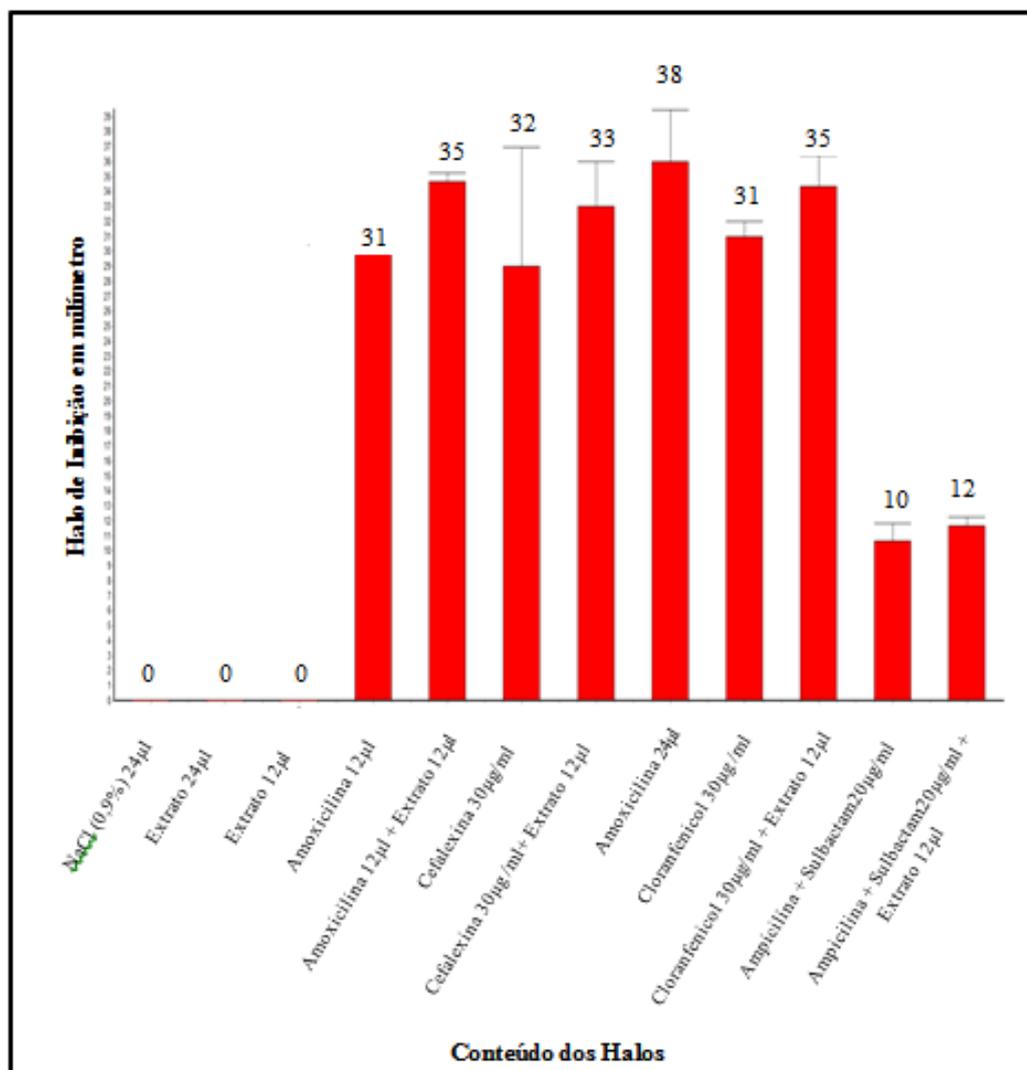
## 5. RESULTADOS

### 5.1 Atividade Antibacteriana

Os gráficos e as tabelas seguintes apresentam os resultados obtidos no teste de disco-difusão para cada cepa bacteriana utilizada (*E.coli* BW9091 e *E.coli* AB1157), no tratamento com diferentes extratos aquosos da espécie *Taraxacum officinale* (folha, flor e raiz).

De acordo com a análise de variâncias (ANOVA) dos resultados para o ensaio de atividade antibacteriana, observa-se um valor de p menor que 0,0001, considerado extremamente significativo. Já o teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer, apresentou um valor de q maior que --, portanto p é menor que 0,05.

Figura 19 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 2 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 12µl	0,0 ± 0,0
Amoxicilina 12µl	31 ± 0,5
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	35 ± 0,5
Cefalexina 30µg/ml	32 ± 7,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	33 ± 3,0
Amoxicilina 24µl	35 ± 3,0
Cloranfenicol 30µg/ml	31 ± 1,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	35 ± 2,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	10 ± 1,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	12 ± 0,5

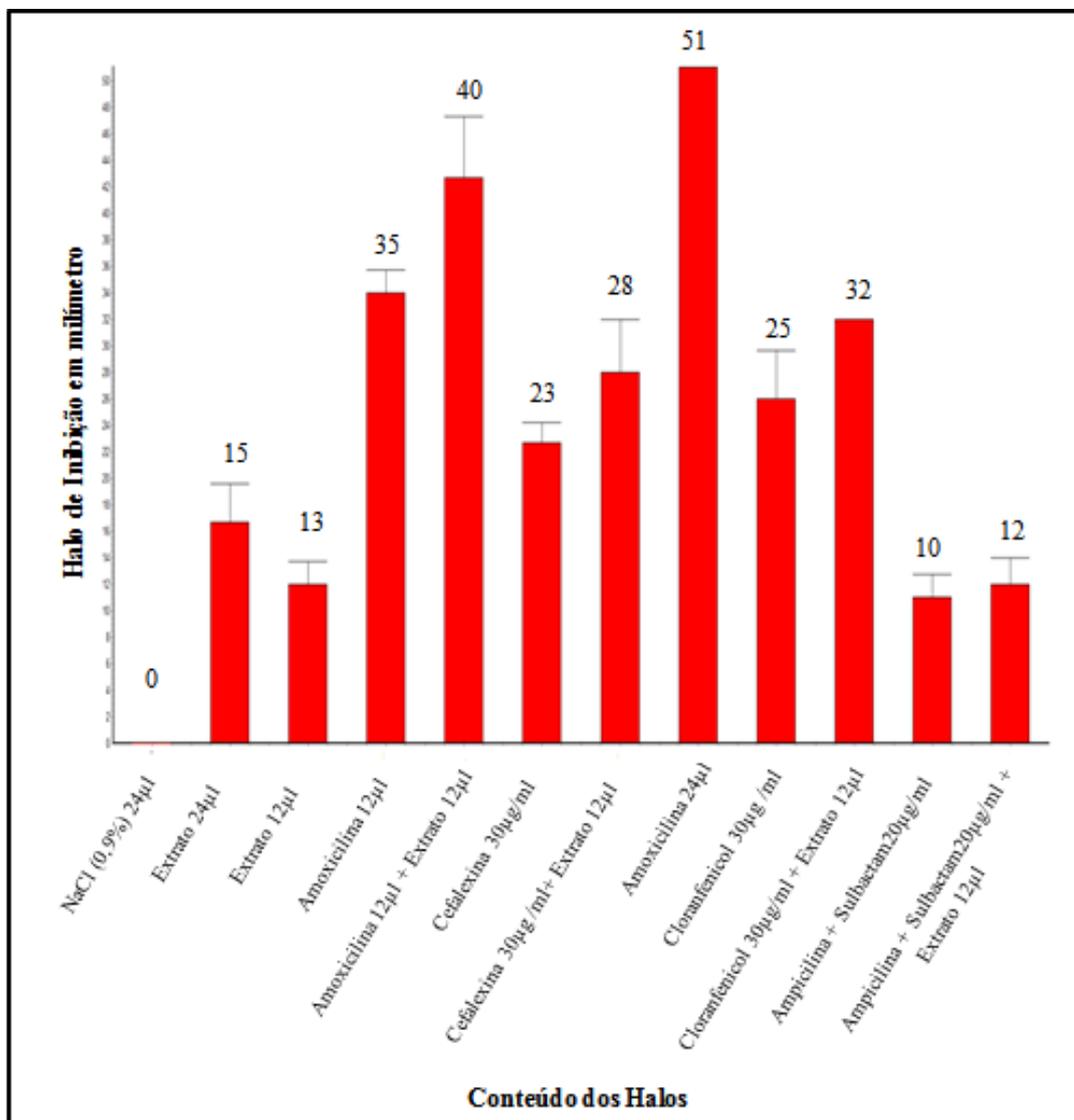
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 3 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	4,0	p < 0,001
Amoxicilina 12µl		
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	1,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml		
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	4,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml		
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	2,0	p < 0,01
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 20 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 4 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	15 ± 2,0
Extrato 12µl	13 ± 1,0
Amoxicilina 12µl	35 ± 1,0
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	40 ± 4,0
Cefalexina 30µg/ml	23 ± 1,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	28 ± 4,0
Amoxicilina 24µl	51 ± 0,0
Cloranfenicol 30µg/ml	25 ± 3,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	32 ± 0,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	10 ± 1,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	12 ± 2,0

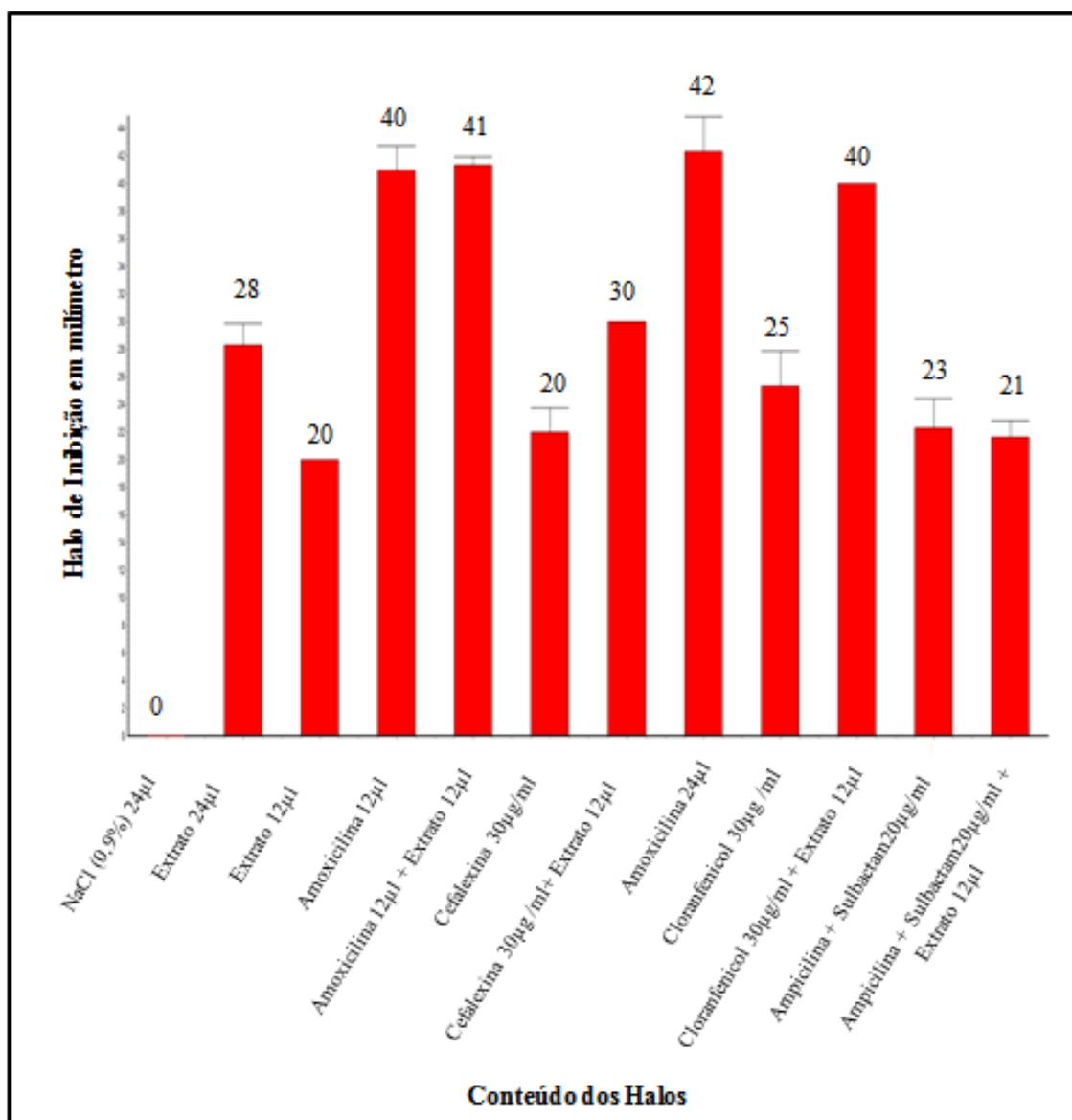
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 5 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	5,0	p < 0,001
Amoxicilina 12µl		
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	5,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml		
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	7,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml		
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	2,0	p > 0,05
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 21 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 6 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Discos	Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	28 ± 1,0
Extrato 12µl	20 ± 0,0
Amoxicilina 12µl	40 ± 1,0
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	41 ± 0,5
Cefalexina 30µg/ml	20 ± 1,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	30 ± 0,0
Amoxicilina 24µl	42 ± 2,0
Cloranfenicol 30µg/ml	25 ± 2,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	40 ± 0,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	23 ± 2,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	21 ± 1,0

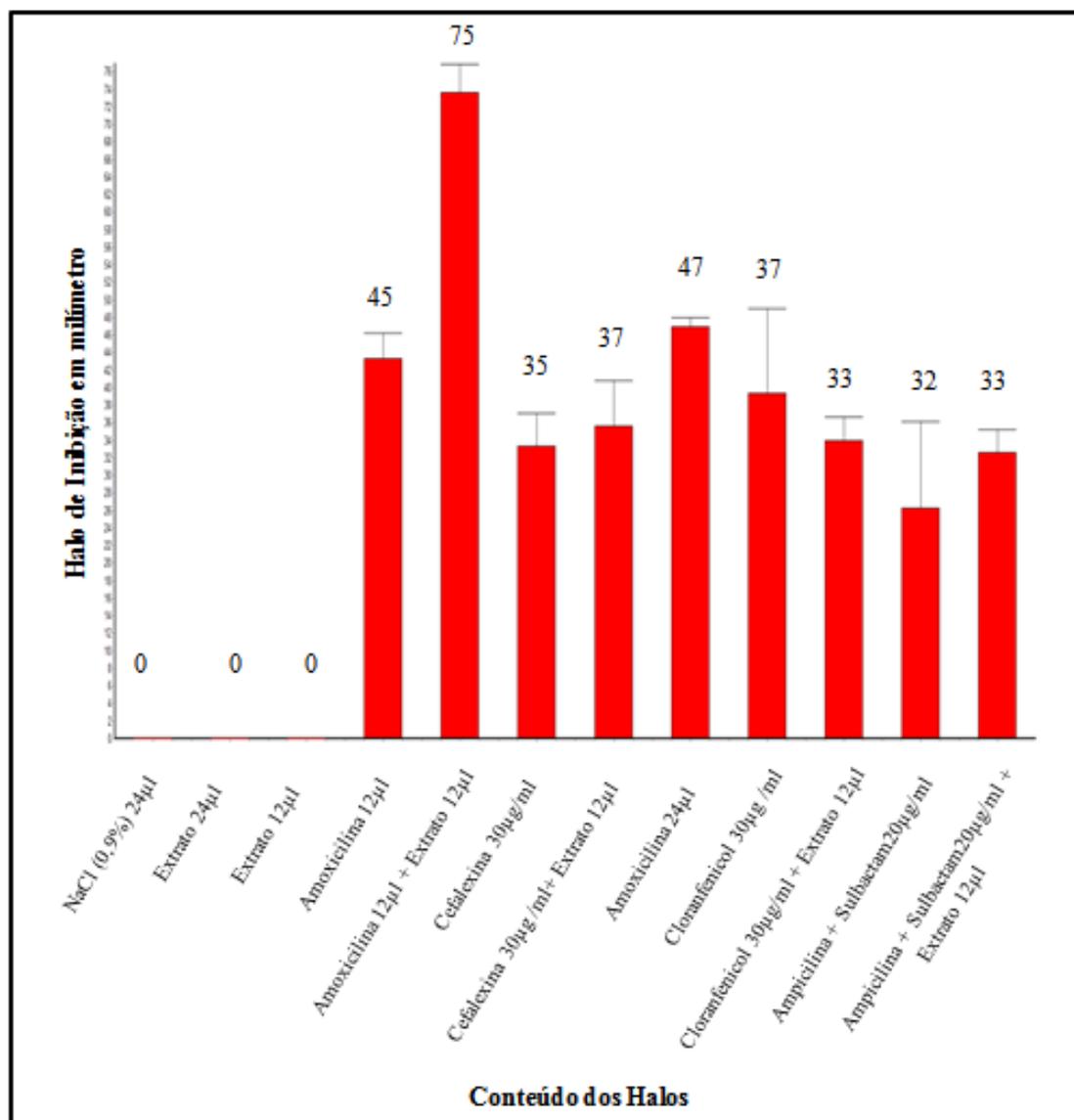
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 7 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Comparações	Diferença dos Halos (mm)	Tukey-Kramer (P)
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	1,0	p < 0,001
Amoxicilina 12µl		
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	10,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml		
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	15,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml		
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	- 2,0	p < 0,01
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 22 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 8 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	0,0 ± 1,0
Extrato 12µl	0,0 ± 0,0
Amoxicilina 12µl	45 ± 2,0
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	75 ± 3,0
Cefalexina 30µg/ml	35 ± 3,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	37 ± 5,0
Amoxicilina 24µl	47 ± 1,0
Cloranfenicol 30µg/ml	37 ± 9,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	33 ± 2,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	32 ± 9,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	33 ± 2,0

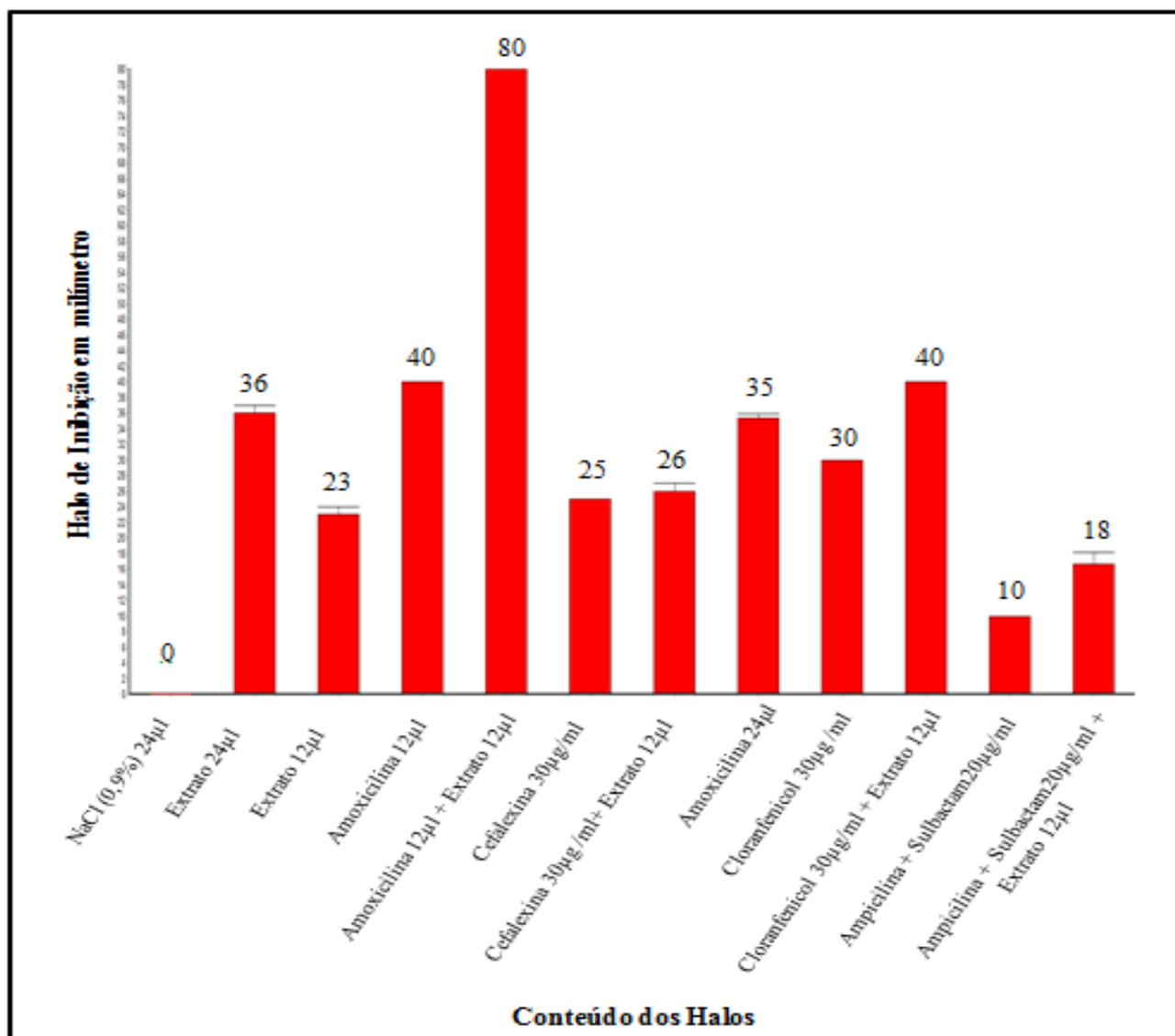
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 9 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	30,0	p < 0,001
Amoxicilina 12µl		
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	2,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml		
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	- 4,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml		
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	1,0	p < 0,001
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 23 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 10 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	36 ± 1,0
Extrato 12µl	23 ± 1,0
Amoxicilina 12µl	40 ± 0,0
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	80 ± 0,0
Cefalexina 30µg/ml	25 ± 0,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	26 ± 1,0
Amoxicilina 24µl	35 ± 0,5
Cloranfenicol 30µg/ml	30 ± 0,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	40 ± 0,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	10 ± 0,0
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	17 ± 1,5

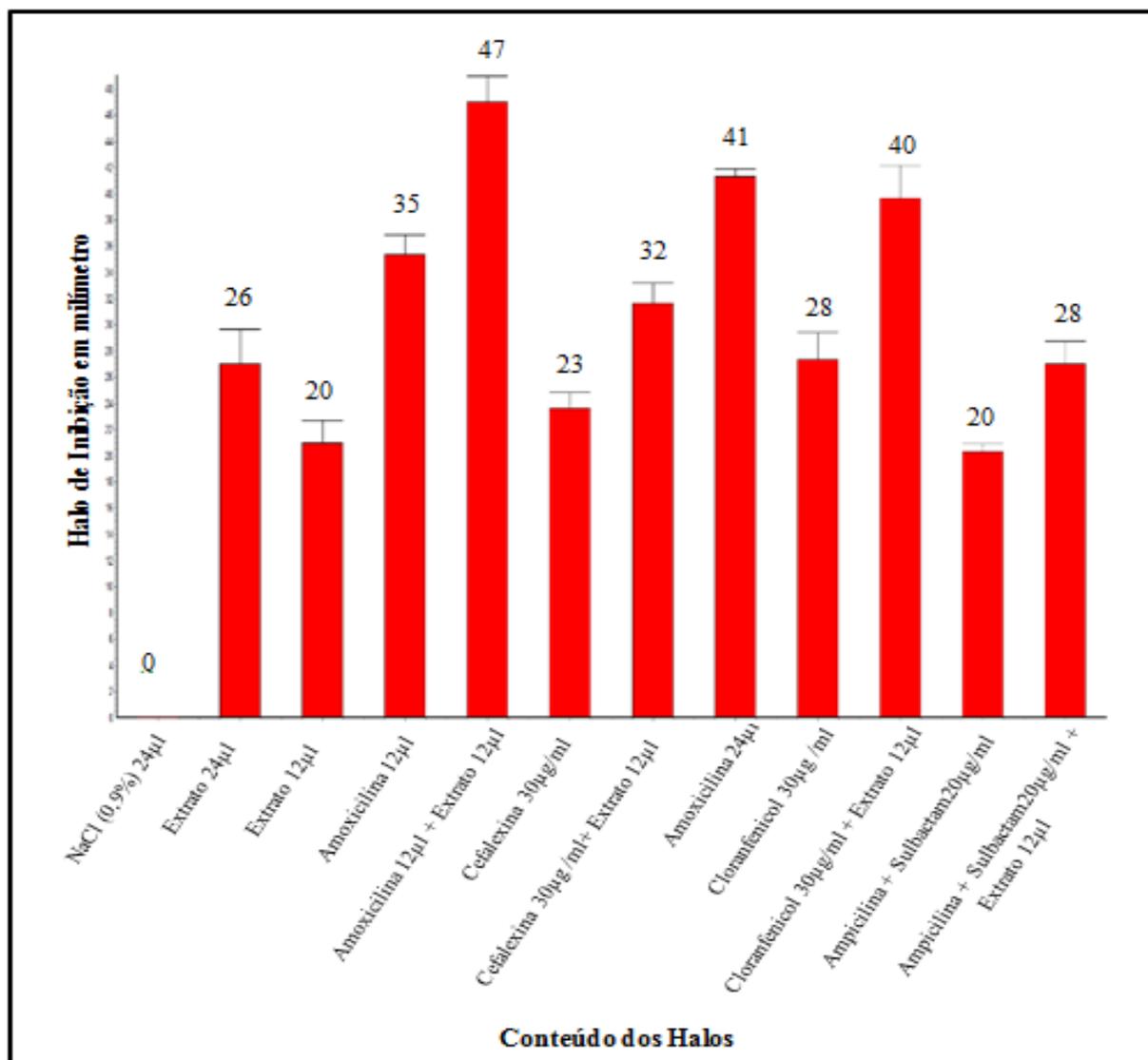
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 11 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl Amoxicilina 12µl	40,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl Cefalexina 30µg/ml	1,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl Cloranfenicol 30µg/ml	10,0	p < 0,001
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	7,0	p < 0,001
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 24 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 24 µL de Cloreto de Sódio (NaCl 0,9% P/V); 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Amoxicilina (50 mg / mL); 12 µL de Amoxicilina + 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Amoxicilina; Disco de Cloranfenicol (30 µg/mL); Disco de Cloranfenicol + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Cefalexina (30µg/mL); Disco de Cefalexina + 12 µL de Extrato Aquoso; Disco de Ampicilina associada à Sulbactam (20 µg/mL); Disco de Ampicilina associada à Sulbactam + 12 µL de Extrato. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 12 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
NaCl (0,9%) 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 24µl	26 ± 2,5
Extrato 12µl	20 ± 1,7
Amoxicilina 12µl	35 ± 1,5
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	47 ± 2,0
Cefalexina 30µg/ml	23 ± 1,0
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	32 ± 1,5
Amoxicilina 24µl	41 ± 0,5
Cloranfenicol 30µg/ml	28 ± 2,0
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	40 ± 2,5
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml	20 ± 2,5
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml +	28 ± 1,7
Extrato 12µl	

\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 13 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157.

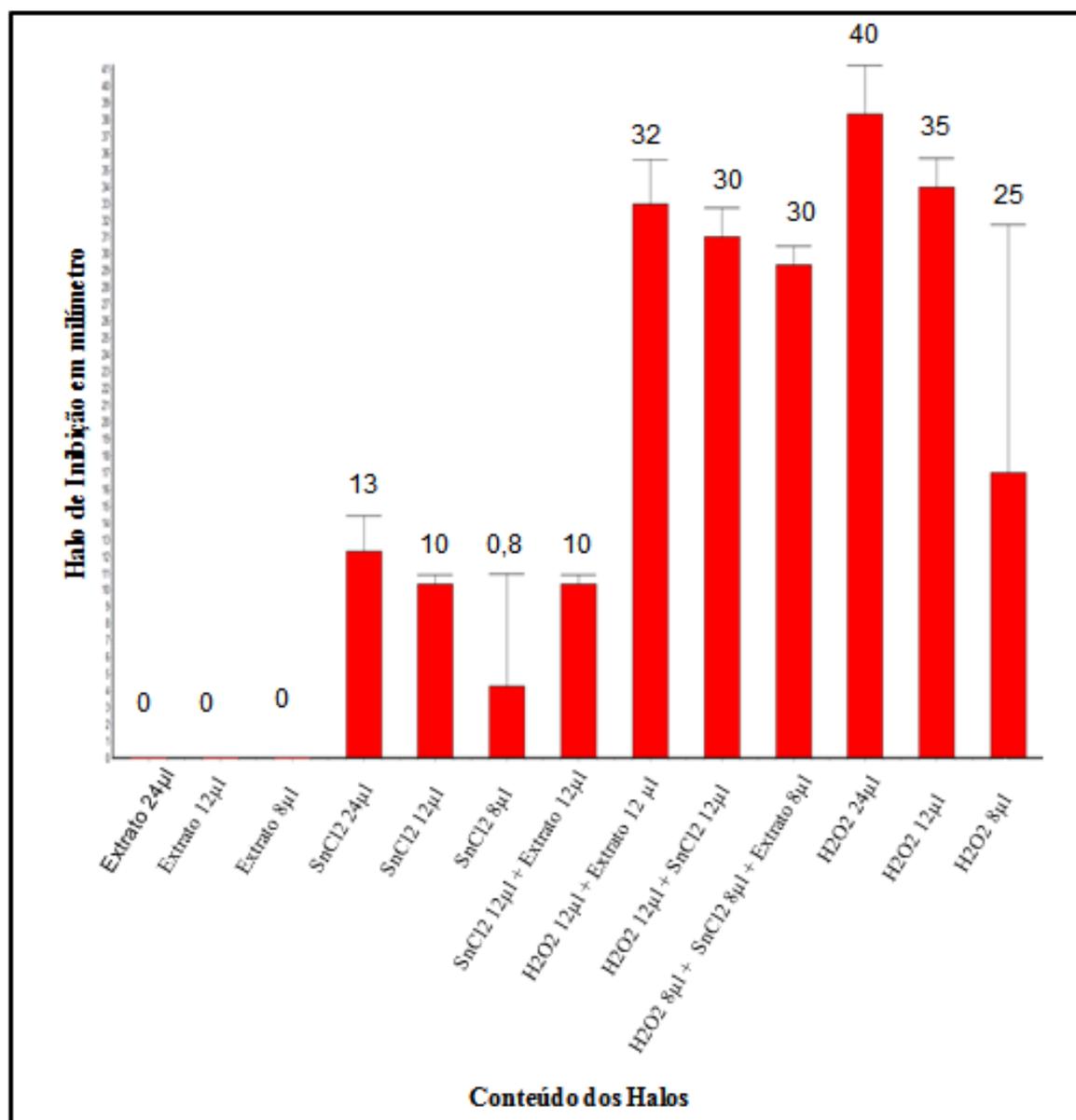
<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
Amoxicilina 12µl + Extrato 12µl	11,0	p < 0,001
Amoxicilina 12µl		
Cefalexina 30µg/ml + Extrato 12µl	9,0	p < 0,001
Cefalexina 30µg/ml		
Cloranfenicol 30µg/ml + Extrato 12µl	12,0	p < 0,001
Cloranfenicol 30µg/ml		
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml + Extrato 12µl	7,0	p < 0,01
Ampicilina associada à Sulbactam 20µg/ml		

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

## 5.2 Correlação Antioxidante

Os gráficos seguintes apresentam os resultados obtidos no teste de disco-difusão com o agente antioxidante conhecido na literatura para cada cepa bacteriana investigada (Cloroformo e Peróxido de hidrogênio), bem como sua respectiva concentração e os extratos aquosos avaliados (folha, flor e raiz) da espécie *Taraxacum officinale*, popularmente conhecida como dente-de-leão.

Figura 25 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 14 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Discos	Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão
Extrato 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 12µl	0,0 ± 0,0
Extrato 8µl	0,0 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 24µl	13 ± 2,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	10 ± 0,5
SnCl <sub>2</sub> 8µl	0,8 ± 6,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	10 ± 0,5
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	32 ± 2,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	30 ± 1,7
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	30 ± 1,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	40 ± 2,8
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	35 ± 1,7
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	25 ± 14,7

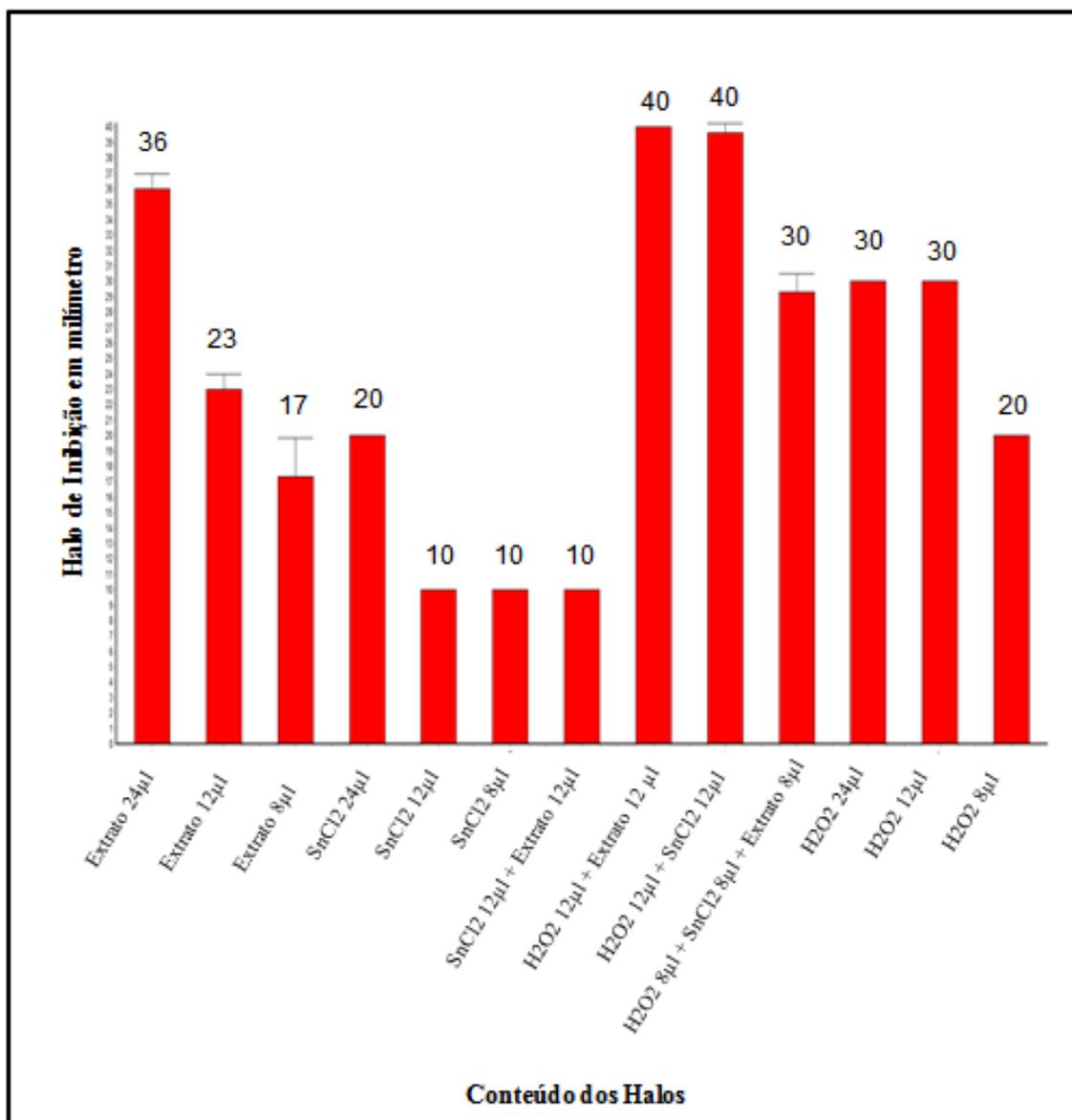
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 15 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Comparações	Diferença dos Halos (mm)	Tukey-Kramer (P)
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	0,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	3,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	5,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	20,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	30,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	29,2	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	5,0	p > 0,05

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 26 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 16 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Discos	Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão
Extrato 24µl	36 ± 1,0
Extrato 12µl	23 ± 1,0
Extrato 8µl	17 ± 2,5
SnCl <sub>2</sub> 24µl	20 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 8µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	10 ± 0,0
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	40 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	40 ± 0,5
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	30 ± 1,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	30 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	30 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	20 ± 0,0

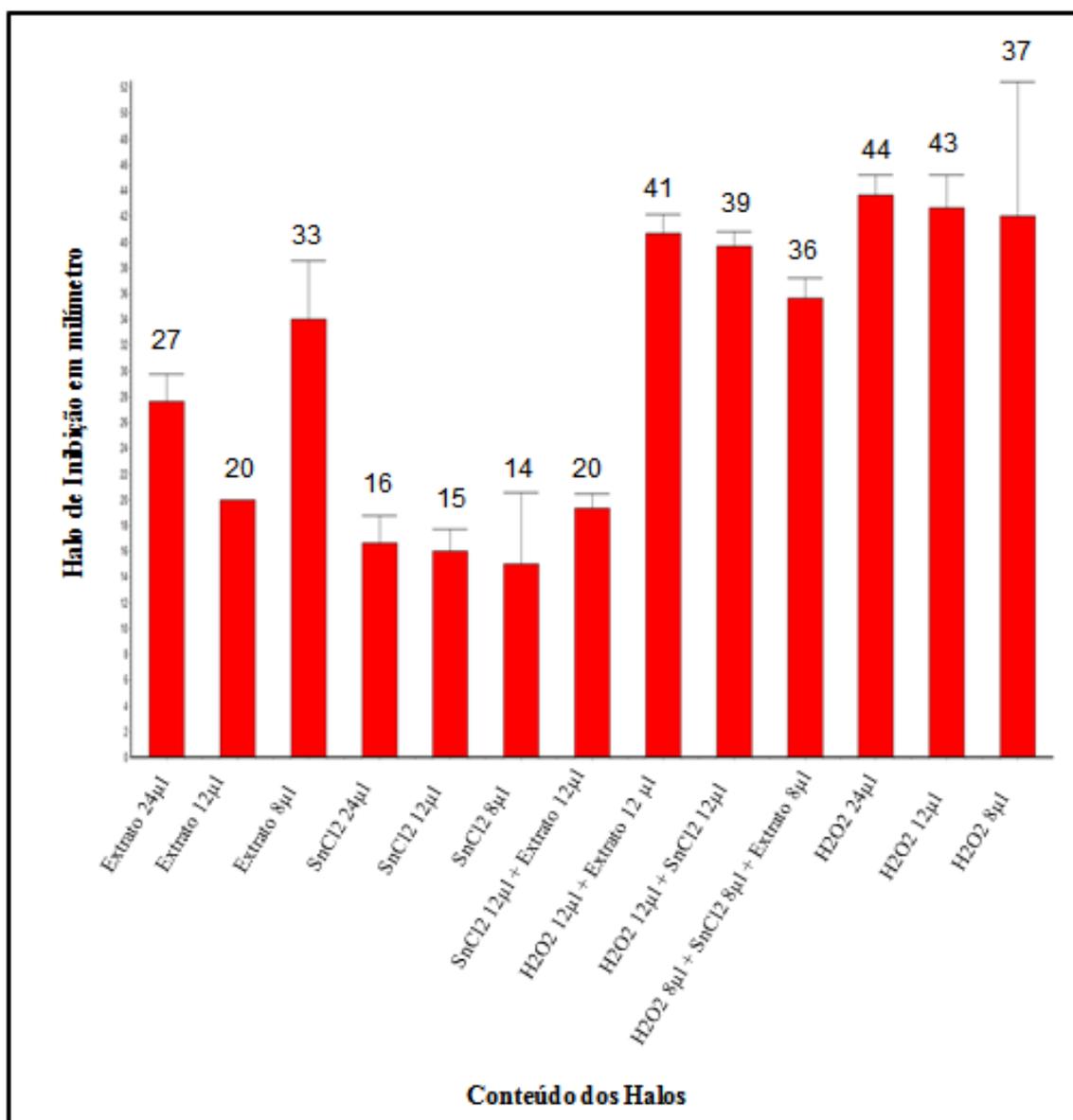
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 17 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Comparações	Diferença dos Halos (mm)	Tukey-Kramer (P)
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	0,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	10,0	p < 0,001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	10,0	p < 0,001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	30,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	13,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	20,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	10,0	p < 0,001

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 27 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* BW9091



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 18 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Discos	Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão
Extrato 24µl	27 ± 2,0
Extrato 12µl	20 ± 0,0
Extrato 8µl	33 ± 4,5
SnCl <sub>2</sub> 24µl	16 ± 2,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	15 ± 1,7
SnCl <sub>2</sub> 8µl	14 ± 5,5
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	20 ± 1,0
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	41 ± 1,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	39 ± 1,0
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	36 ± 1,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	44 ± 1,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	43 ± 2,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	37 ± 10,4

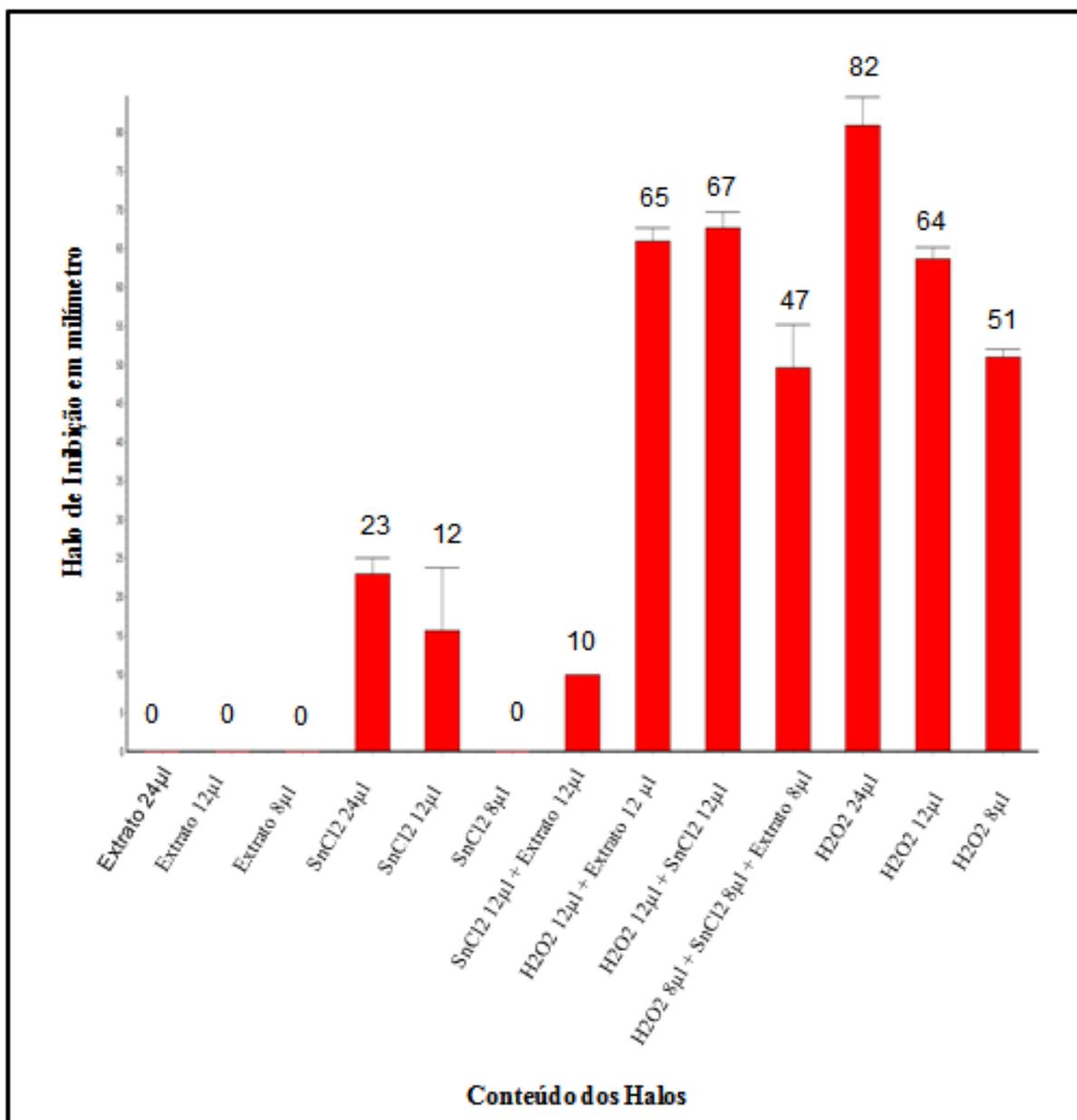
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 19 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* BW9091

Comparações	Diferença dos Halos (mm)	Tukey-Kramer (P)
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	5,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	2,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	4,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	24,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	1,0	p > 0,05
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	22,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	1,0	p > 0,05

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 28 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 20 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
Extrato 24µl	0,0 ± 0,0
Extrato 12µl	0,0 ± 0,0
Extrato 8µl	0,0 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 24µl	23 ± 2,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	12 ± 8,0
SnCl <sub>2</sub> 8µl	0,0 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	10 ± 0,0
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	65 ± 1,7
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	67 ± 2,0
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	47 ± 5,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	82 ± 3,6
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	64 ± 1,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	51 ± 1,0

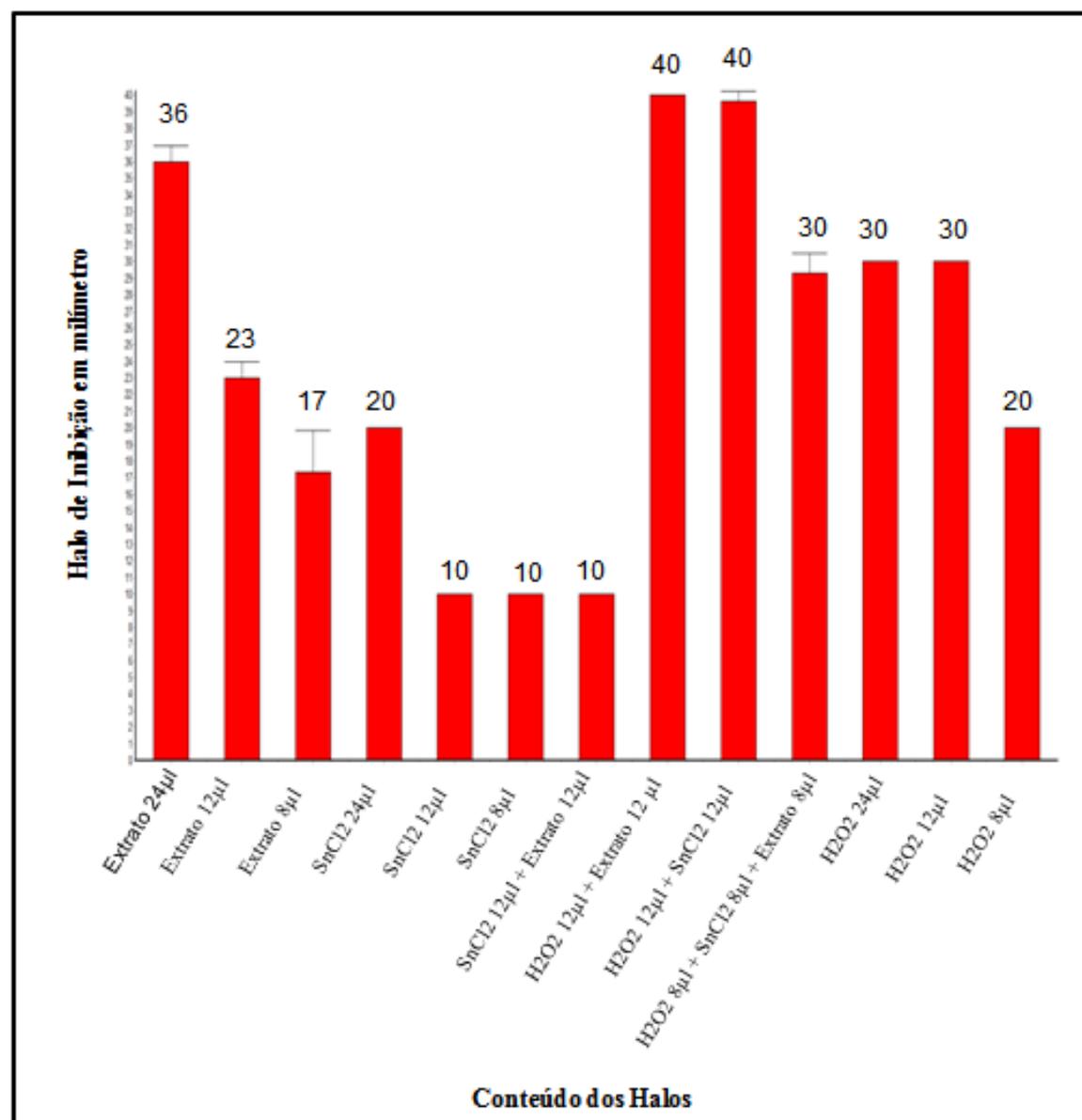
\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 21 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da folha da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	2,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	14,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	3,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	55,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	47,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	4,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	47,0	p > 0,05

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 29 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 22 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

Discos	Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão
Extrato 24µl	36 ± 1,0
Extrato 12µl	23 ± 1,0
Extrato 8µl	17 ± 2,5
SnCl <sub>2</sub> 24µl	20 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 8µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	10 ± 0,0
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	40 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	40 ± 0,5
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	30 ± 1,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	30 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	30 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	20 ± 0,0

\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

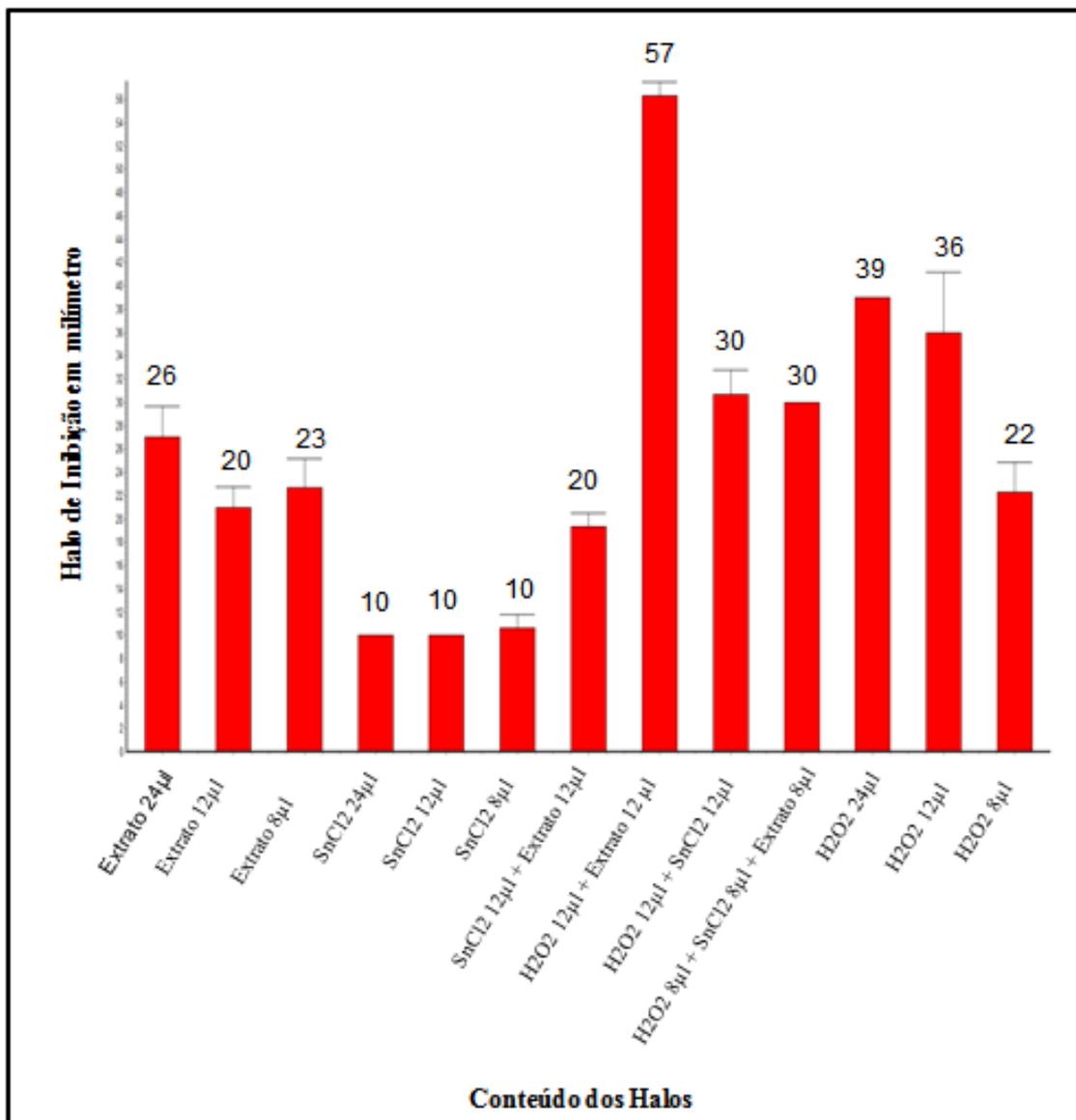
Tabela 23 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

Comparações	Diferença dos Halos (mm)	Tukey-Kramer (P)
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	10,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	10,0	p < 0,001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	10,0	p < 0,001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	30,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	13,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	10,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	20,0	p < 0,001

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

Figura 30 – Correlação dos diversos tratamentos\* utilizando diferentes volumes, associados ou não ao extrato

aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* e os halos de inibição de crescimento bacteriano para a cepa *E.coli* AB1157.



\*Dados constantes no eixo das abscissas: 8 µL de Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso; 24 µL de Extrato Aquoso; 8 µL de Cloreto Estanoso (SnCl<sub>2</sub>) a 5 mg / mL; 12 µL de Cloreto Estanoso; 24 µL de Cloreto Estanoso; 12 µL de Cloreto Estanoso + 12 µL do Extrato Aquoso; 12 µL de Extrato Aquoso + 12 µL de Peróxido de Hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% V/V); 12 µL de Peróxido de Hidrogênio + 12 µL de Cloreto Estanoso; 8 µL de Extrato Aquoso + 8 µL de Cloreto Estanoso + 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 8 µL de Peróxido de Hidrogênio; 12 µL de Peróxido de Hidrogênio; 24 µL de Peróxido de Hidrogênio. No eixo das ordenadas encontramos os valores dos halos de inibição em milímetros.

Tabela 24 – Avaliação dos halos formados com antibióticos e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Discos</b>	<b>Média dos halos (mm) ± Desvio Padrão</b>
Extrato 24µl	26 ± 2,6
Extrato 12µl	20 ± 1,7
Extrato 8µl	23 ± 2,5
SnCl <sub>2</sub> 24µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl	10 ± 0,0
SnCl <sub>2</sub> 8µl	10 ± 1,0
SnCl <sub>2</sub> 12µl + Extrato 12µl	20 ± 1,0
Extrato 12µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	57 ± 1,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl + SnCl <sub>2</sub> 12µl	30 ± 2,0
Extrato 8µl + SnCl <sub>2</sub> 8µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	30 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 24µl	39 ± 0,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12µl	39 ± 5,0
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8µl	22 ± 2,5

\*Dados da primeira coluna: conteúdo dos discos. Segunda coluna demonstra a média geradas entre as triplicatas e o desvio-padrão (margem de erro) dessas médias.

Tabela 25 – Comparações dos halos formados com antibióticos isolados e as respectivas associações ao extrato aquoso da raiz da espécie *Taraxacum officinale* sobre a cepa de *E. coli* AB1157

<b>Comparações</b>	<b>Diferença dos Halos (mm)</b>	<b>Tukey-Kramer (P)</b>
SnCl <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12µl	10,0	p < 0,001
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + Extrato 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	21,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl	6,0	p > 0,05
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 12 µl + SnCl <sub>2</sub> 12 µl SnCl <sub>2</sub> 12 µl	20,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl Extrato 8 µl	7,0	p > 0,05
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl SnCl <sub>2</sub> 8 µl	20,0	p < 0,001
Extrato 8 µl + SnCl <sub>2</sub> 8 µl + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 8 µl	8,0	p < 0,01

\*Dados da primeira coluna: conteúdos associados utilizados nos discos. Segunda coluna representa a diferença em milímetros do crescimento entre os halos tratados com e sem os extratos. Terceira coluna demonstra o valor de p, que é a significância das médias geradas pelas triplicatas.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1 Atividade Antibacteriana

Ao longo dos últimos anos observa-se o aparecimento de abordagens médicas alternativas, incluindo o uso de suplementos de ervas, produtos naturais e medicamentos tradicionais, que são coletivamente conhecidos como "Medicamentos complementares". Muitos extratos de plantas medicinais possuem expressivas propriedades antimicrobianas, anti-inflamatória e na redução de tumores, no entanto, a maioria delas permanece inexplorada. Neste estudo, foram observados, a partir das análises dos resultados obtidos do extrato aquoso da *Taraxacum officinale*, que a amostra do extrato da folha não exerceu efeito citotóxico sobre as cepas bacterianas testadas de *Escherichia coli* AB 1157 e BW 9091, uma vez que não foi observado halo de inibição nos experimentos efetuados, em contrapartida, os extratos aquosos da flor e raiz da mesma espécie obtiveram sucesso no que diz respeito ao efeito citotóxico sobre as respectivas cepas bacterianas, uma vez que houve formação de halo de inibição de crescimento bacteriano nos experimentos.

De acordo com os estudos literários, vários metabólitos secundários que constituem essa espécie, como saponinas, inulinas, derivados terpênicos, glicosídeos taraxacósídeos, esteróis e entre outras substâncias, são elucidados como os possíveis responsáveis pela ação tanto antibacteriana, como também na redução do tumor não metastático, que são os dois destaques desse estudo.

Em relação à cepa de *Escherichia coli* BW 9091 a qual foi tratada com os extratos aquosos da *Taraxacum officinale* (folha, flor e raiz), foi observado a formação de halos de inibição e este resultado pode estar relacionado com as considerações de Silva et al. (2004) que descrevem esta bactéria como sendo mutante para o gene *xthA*, cujo produto, a exonuclease III, atua no reparo de lesões oxidativas do DNA em fase exponencial de desenvolvimento estabelecendo uma plausível ação antibacteriana do extrato por apresentar como constituintes fitoquímicos inulinas (CERUKS et al., 2007) e terpenos (MALIK et al., 1994), assim como os compostos polifenólicos sesquiterpenos, flavonoides e saponinas, substâncias presentes em maior quantidade nas flores e raiz (BARBOSA et al., 2007). Esses resultados corroboram com os encontrados nas investigações de Degáspari et al. (2005); Johann et al. (2008); Paiva et al. (2010); Machado et al. (2012) e Gomes et al. (2013) que em investigações análogas recentes, confirmaram atividade antimicrobiana relacionadas com esta espécie vegetal, associados a esses compostos metabólicos.

Em relação à *Escherichia coli* AB 1157, que foi tratada com os extratos aquosos da flor, folha e raiz da *Taraxacum officinale*, foi observado uma formação bastante significativa de halos de inibição do crescimento bacteriano, e esse resultado pode estar relacionado às considerações de Silva et. al. (2004) que descreve essa bactéria como sendo proficiente em todos os genes de reparo do DNA, estabelecendo uma possível ação antibacteriana do extrato por ele apresentar os constituintes citados acima, atuando sobre as lesões oxidativas em fase exponencial de crescimento.

Nas associações junto aos antibióticos os extratos aquosos de *Taraxacum officinale* (folha, flor e raiz) apresentaram-se ação mais efetiva quando comparado com os antibióticos isolados. Em relação aos resultados obtidos, relacionados com o aumento do halo, pode-se estar à ação sinérgica, ou seja, uma plausível interação medicamentosa entre os fitocomplexos do extrato natural com os principais grupos funcionais dos antibióticos testados. Alguns compostos ainda desconhecidos, derivados do metabolismo secundário da *Taraxacum officinale*, poderiam interferir com o mecanismo de ação dos antibióticos, resultando na potencialização de suas atividades farmacológicas (ALEXANDRE et al., 2008).

Os resultados mostram a correlação de diversos tratamentos utilizando diferentes volumes, associado ou não aos extratos aquosos da flor, folha e raiz da espécie *Taraxacum officinale* de acordo com a formação do halo de crescimento. O diâmetro do halo formado pelo crescimento bacteriano é inversamente proporcional à concentração inibitória mínima (MIC), logo, quanto maior o diâmetro do halo, maior a ação da substância utilizada. Mediante a isso, foi observado que quando utilizado os extratos aquosos da flor, folha e raiz nas concentrações tanto de 24µl como de 12µl e 8 µl, houve uma redução do crescimento da cepa selvagem (*E.coli* AB1157), porém, essa inibição não foi tão significativa como quando associado o extrato da flor com o antibiótico Amoxicilina, ambos em concentrações de 12µl.

Essa mesma linha de inibição foi observada para os antibióticos Cefalexina, Cloranfenicol e Ampicilina associada à Sulbactam, que quando associadas ao extrato aquoso da flor obteve-se um diâmetro maior do que quando administrado o antibiótico isolado. Com isso, pode-se sugerir que o extrato aquoso da flor da espécie *Taraxacum officinale* age como um potencializador de antibióticos, podendo também diminuir a resistência bacteriana, especialmente da cepa *Escherichia coli* AB1157, aos antibióticos testados, dando um maior destaque ao antibiótico Amoxicilina.

Em relação aos resultados obtidos, ligados ao aumento do halo, há uma ação sinérgica, ou seja, ocorre uma possível interação medicamentosa entre os fitocomplexos do extrato natural e os principais grupos funcionais dos antibióticos testados. Um dos melhores clássicos

literários cita que derivados do metabolismo secundário da *Taraxacum officinale*, interferem com o mecanismo de ação dos antibióticos, resultando na potencialização de suas atividades farmacológicas (ALEXANDRE et al., 2008).

Moléculas fitoterapêuticas podem interagir com estes compostos, resultando em atividades negativas no organismo bacteriano, o que poderia justificar a formação de halos de inibição na cepa de *E. coli* AB1157 que foi tratada com o extrato aquoso, já que o extrato é composto por misturas complexas de vários heterócitos químicos que podem ser responsáveis por várias ações, como efeitos antagônicos ou sinérgicos dos medicamentos, como resultado da interação de diversos constituintes químicos ativos (WILLIAMSON, 2005). Porém em muitas ocasiões os produtos químicos constituintes responsáveis pelas atividades farmacológicas de plantas medicinais podem aumentar a possibilidade de interações quando as drogas são usadas concomitantemente (FUGH- BERMAN & ERNST, 2001; NICOLETTI et al., 2007).

De acordo com Nascimento et al. (2000) os subprodutos de plantas podem impedir, aumentar ou mesmo não exercer efeito sobre o efeito medicinal de certos compostos convencionais presentes em medicamentos. Em uma revisão da literatura de Alexandre et al. (2008), verificaram que a fitoterapia pode interferir com a farmacocinética e / ou farmacodinâmica de vários medicamentos. Teles e Costa (2014) para determinar a existência de interações e interferências na combinação de dois extratos aquosos de *Punicagranatum* e *Plantago major*, em cepas de *E. coli*, concluiu que existe interação entre os extratos e o antibiótico testado, na amoxicilina, porém, esta interação pode ocorrer da mesma forma com outros antibióticos associados a outros extratos de outras plantas.

Essas interações podem estar relacionadas ao fato de que os antibióticos têm muitos grupos funcionais hidroxila (-OH), um radical polar, que permite hidrocarbonetos, mesmo não polares, interagirem bem com fitocomplexos, que em muitos arranjos moleculares também apresentam numerosos radicais polares. Assim, estes hidrocarbonetos formam sistemas heterogêneos com água. Além disso, em todos os casos, a polaridade da molécula depende de vários fatores químicos, bem como da disposição dos átomos e da presença de elétrons não vinculativos. Muitos desses compostos que apresentam um grupo funcional - OH ligado a átomos de carbono saturados são solúveis em solventes polares por causa da associação das ligações de hidrogênio. Assim, enquanto muitos metabólitos vegetais secundários são formados por compostos fenólicos, a interação medicamentosa pode estar presente uma vez já que os fenóis também possuem o grupamento-OH ligado a um átomo de carbono de um anel aromático, formando assim uma ligação de hidrogênio com água e aumentando a sua

solubilidade. Desta forma, as várias funções orgânicas dão origem a um vasto conjunto de moléculas complexas cuja solubilidade e interações estão diretamente associadas às suas estruturas químicas. Desta forma, diversos processos biológicos estão diretamente relacionados à solubilidade das substâncias orgânicas, e com a possibilidade de formação das ligações de hidrogênio, que as tornam altamente solúveis na fase aquosa (MARTINS et al., 2013).

O tipo de extrato aquoso utilizado no presente estudo contrapõem as considerações de Santos et al. (2015), onde os mesmos afirmam que não há sistematização que permite uma correlação entre as partes da planta utilizada e o tipo de extrato testado com o propriedade antimicrobiana, já que as substâncias presentes nas diferentes partes dos tecidos vegetais, têm uma ampla gama de extração, nos diferentes tipos de extratores. Ao contrário disso, o extrato aquoso da folha da planta *Taraxacum officinale* quando testado isoladamente tanto na cepa *E.coli* BW9091 quanto na cepa *E.coli* AB1157, não obteve um resultado favorável à inibição do crescimento bacteriano.

Investigações químicas têm mostrado que compostos polifenólicos como saponinas e inulinas, que são os principais constituintes dos extratos tanto flor quanto da raiz e folha da *Taraxacum officinale* (FARAG, 2008; EL-MASSRY et al., 2009; SILVA et al., 2017), podem estar relacionados com a formação dos halos inibitórios para a cepas bacterianas estudadas quando testada contra a fração dos extratos aquosos, uma vez que estudos de Verma et al. (2013) mostraram que altas concentrações de compostos polifenólicos (que caracterizam as saponinas e inulinas) induzem as inúmeras alterações biológicas, entre elas alterações a nível de membrana celular, onde ocorre um significativo dano a estrutura dos cromossomos (PORTO et al., 2013; GIULIANI et al., 2014).

Com relação à análise comparativa do próprio extrato aquoso da flor da *Taraxacum officinale* com as outras partes da mesma planta (folha e raiz) nas duas cepas estudadas, pode-se confirmar a ação potencializadora deste extrato, tendo os valores estatísticos de Tukey-Kramer, que é um teste de análise comparativa da significância das médias, dentro da faixa exigida de  $P < 0,05$  para a associação do extrato com os antibióticos Amoxicilina, Cloranfenicol e Cefalexina. Em contrapartida, o extrato aquoso da flor quando associado ao antibiótico Ampicilina+Sulbactam não obteve uma significância estatística quando testada no combate a cepa *E.coli* BW9091.

O desvio padrão é uma medida que expressa o grau de dispersão de um conjunto de dados, ou seja, o desvio padrão indica o quanto um conjunto de dados é uniforme. Quanto mais próximo de zero for o desvio padrão, mais homogêneos são os dados. Porém, não se

pode interpretar fielmente tudo que os testes estatísticos mostram da forma que eles foram regradados. O que o deve-se perguntar ao interpretar os resultados de uma pesquisa é "os resultados obtidos são relevantes do ponto de vista clínico?" (FEINSTEIN, 1973). "Muitas vezes um resultado "estatisticamente significativo" pode não ser" clinicamente importante".

Considreando o dito anterior, pode-se observar que o desvio-padrão dos antibióticos Cefalexina, Cloranfenicol e Ampicilina associada à Sulbactam nos resultados expostos as cepas de *E.coli* BW9091 e *E.coli* AB1157 ultrapassaram o limite dito como um padrão aceitável estatisticamente, porém se observados que ambos os antibióticos quando associados ao extrato aquoso da folha na concentração de 12µl tem o seu desvio-padrão diminuído para dentro dos níveis aceitáveis da estatística em ambas as cepas bacterianas (mesmo que a média de inibição de crescimento do halo bacteriano tenha reduzido de forma insignificante) o efeito antibacteriano continua sendo o mesmo, porém a chance de erro (sendo ele um efeito colateral, uma resistência aos antibióticos, etc) reduz, levando os antibióticos a terem um efeito clinicamente importante.

Essa redução se dá pela afinidade do grupamento hidroxila (OH) dos respectivos antibióticos pelos metabólitos secundários da folha da *Taraxacum officinale*, fazendo então, uma espécie de remodelamento de sua estrutura química.

Tendo em vista essa ação de interação entre o fitocomplexo e as substâncias químicas, é válido ressaltar a importância do uso racional de fitoterápicos, pois da mesma maneira que ela interage com os antibióticos gerando uma ação terapêutica, ela pode interagir com outras substâncias químicas que possibilite a geração de um efeito adverso, colateral ou tóxico ao organismo.

Os efeitos farmacológicos aplicados a esta espécie da planta Dente-de-leão descritos na literatura, como a ação anticancerígena é vista neste método pelo mesmo modo do efeito antibacteriano, uma vez que a bactéria e o ser humano tem a estrutura celular muito parecida, se diferenciando apenas pela bactéria apresentar parede celular e o ser humano não.

Induzindo o estresse oxidativo da bactéria (lesão oxidativa), é como se o organismo humano estivesse desenvolvendo um tumor, que é uma forma de lesão. Deste modo, a ação anticancerígena, pode ser justificada pela diminuição do estresse oxidativo, uma vez que quanto maior o halo, maior a inibição bacteriana, maior também será a diminuição do estresse oxidativo, levando a diminuição da lesão, podendo ser ela um tumor. Essa capacidade é conferida ao constituinte saponina, uma vez que ela induz a inibição angiogênese (inibição da vascularização) da célula cancerosa.

## 6.2 Correlação antioxidante

No presente estudo, a ação antioxidante dos extratos aquosos da *Taraxacum officinale* (folha, flor e raiz) foi determinada pelo método de difusão em ágar, em que controles positivos para a ação foram Cloreto de estanho ( $\text{SnCl}_2$ ) e Peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Para saber se a diferença significa que a droga funciona e não é simplesmente resultado do acaso, primeiramente, estabelecemos a hipótese nula de nenhuma diferença estatística entre os grupos e a hipótese alternativa de uma diferença estatística. Em seguida, selecionamos um teste estatístico para computar uma estatística de teste, que é uma medida numérica padronizada da diferença entre os grupos. Sob a hipótese nula, esperamos que o valor da estatística de teste seja pequeno, mas há uma pequena probabilidade que essa seja grande, somente por acaso. Uma vez calculada a estatística de teste, a utilizamos para calcular o valor-p. O valor-p é definido como a probabilidade de se um valor da estatística de teste seja maior ou igual ao encontrado. Normalmente o valor de corte para rejeitar a hipótese nula é de 0,05, o que significa que, quando não há nenhuma diferença, um valor tão extremo para a estatística teste é esperado em menos de 5% das vezes (FERREIRA, 2015).

Em relação aos testes experimentais, observou-se que não houve efeito antioxidante da solução aquosa tanto do extrato da flor quanto da raiz e folha da *Taraxacum officinale* já que não houve inibição da ação do cloreto de estanho ( $\text{SnCl}_2$ ) sobre as cepas *Escherichia coli* (BW 9091 e AB 1157), cuja característica é a sensibilidade para este fim, tendo o valor estatístico de Tukey-Kramer na faixa de  $P > 0.05$ .

No controle positivo Peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), o extrato aquoso da flor da *Taraxacum officinale* diminuiu sua ação oxidativa de forma significativa, apresentando o valor de Tukey-Kramer dentro da faixa desejada.

Também foi observado o uso concomitante do extrato aquoso (flor, folha e raiz) da *Taraxacum officinale* mais o Cloreto de estanho ( $\text{SnCl}_2$ ) e o Peróxido de Hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ). Esta avaliação obteve-se resultado positivo significativo para ação antioxidante caracterizada pela inibição oxidativa de ambas as substâncias na presença do extrato aquoso da *Taraxacum officinale*.

É um equívoco achar que um valor muito pequeno de p signifique que a diferença entre os grupos é altamente relevante. Ao olharmos para o valor-p isoladamente, a atenção é desviada do tamanho do efeito. Por exemplo, o valor-p é significativo, mas uma droga que aumente a produção de urina em 45 ml não tem relevância clínica (FERREIRA, 2015). Então,

quando se diz respeito ao efeito antioxidante, a consideração feita anteriormente é aplicada. Logo, este presente estudo mostra que os extratos aquosos da folha e raiz quando associados ao Peróxido de Hidrogênio demonstram um efeito antioxidante sobre as cepas de *Escherichia coli* selvagem e sensível.

### **6.3 Correlação Anticancerígena**

O organismo dispõe de um sistema complexo de proteção antioxidante, como mecanismo de defesa contra os radicais livres, que são formados continuamente no metabolismo celular normal e em diversos eventos patológicos e, quando em excesso, podem ocasionar a oxidação de moléculas biológicas. O desequilíbrio entre o desafio oxidativo e a capacidade de defesa antioxidante do organismo é denominado de estresse oxidativo (MACHADO et al., 2009).

A oxidação é parte imprescindível na vida aeróbica e do metabolismo celular, produzindo radicais livres de forma natural ou por uma disfunção biológica. Esses radicais livres cujo elétron desemparelhado encontra-se centrado nos átomos de oxigênio ou nitrogênio são designados de ERO (espécies reativas de oxigênio) e ERN (espécies reativas de nitrogênio). No organismo, estão envolvidos na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular, imunidade e defesa celular e síntese de substâncias biológicas, entretanto, quando em excesso indicam efeitos prejudiciais ao organismo (BARREIROS et al., 2006; CELI, 2010; OLIVEIRA & SCHOFFEN, 2010).

A produção de ERO está elevada nas lesões teciduais causadas por traumas, infecções, parasitas, radiações, hipóxia, toxinas e exercícios extremos, devido a um conjunto de processos como o aumento de enzimas envolvidas na formação de radicais, a ativação da fagocitose, liberação de ferro e cobre ou uma interrupção da cadeia transportadora de elétrons (ROCK et al., 1996). Dessa forma, encontram-se relacionados com diversas patologias em humanos, como artrite, choque hemorrágico, doenças do coração, catarata, disfunções cognitivas, neoplasias benignas e malignas e AIDS (BARREIROS et al., 2006; OLIVEIRA & SCHOFFEN, 2010).

A mitocôndria é a principal fonte geradora de radicais livres, por meio da cadeia transportadora de elétrons, durante a produção de energia a partir da glicose e do oxigênio. Outra importante fonte geradora de radicais livres são as enzimas NADPH oxidases, que são proteínas de membrana que tem a função de transferir elétrons através das membranas celulares (BARBOSA et al., 2010).

O radical hidroxila ( $\text{HO}^\cdot$ ) é o mais deletério ao organismo, já que detém de uma meia-vida curta, o que dificulta o sequestro in vivo. É formado no organismo principalmente por dois mecanismos: reação do peróxido de hidrogênio ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) com metais de transição e homólise da água por exposição à radiação ionizante. Causa danos ao DNA, RNA, às proteínas, lipídios e membranas celulares do núcleo e mitocondrial. Nos aminoácidos e proteínas, o radical pode reagir na cadeia lateral, onde ataca preferencialmente cisteína, histidina, triptofano, metionina e fenilalanina, acarretando danos com consequente perda de atividade enzimática, dificuldades no transporte ativo através das membranas celulares, citólise e morte celular (BARREIROS et al., 2006).

O peróxido de hidrogênio é pouco reativo frente às moléculas orgânicas na ausência de metais de transição. No entanto, exerce papel fundamental no estresse oxidativo por ser capaz de transpor facilmente as membranas celulares e gerar radical hidroxila, de acordo com a equação:  $\text{M}^{n+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{M}^{(n+1)+} + \text{HO}^\cdot + \text{HO}^-$  (BARREIROS et al., 2006).

Os flavonoides interagem com as biomembranas e exercem a função de moduladores, gerando um impedimento físico para a difusão das ERO e ERN, de modo que há o decréscimo da cinética das reações responsáveis pelo estresse oxidativo (BARREIROS et al., 2006).

Os efeitos farmacológicos aplicados a esta espécie da planta Dente-de-leão descritos na literatura, como a ação anticancerígena é vista neste método pelo mesmo modo do efeito antibacteriano, uma vez que a bactéria e o ser humano tem a estrutura celular muito parecida, se diferenciando apenas pela bactéria apresentar parede celular e o ser humano não. Logo, baseado nesses estudos literários, ao induzir o estresse oxidativo na bactéria (lesão oxidativa), é como se o organismo humano estivesse desenvolvendo um tumor, que é uma forma de lesão. Deste modo, a ação anticancerígena, pode ser justificada pela diminuição do estresse oxidativo, uma vez que quanto maior o halo, maior a inibição bacteriana, maior também será a diminuição do estresse oxidativo, levando a diminuição da lesão, podendo ser ela um tumor. Essa capacidade é conferida ao constituinte flavonóide da planta *Taraxacum officinale*, que induzem as células tumorais a morte sem danificar as células saudáveis.

Outro constituinte da planta que apresenta composição química anticancerígena é a saponina. Este componente tanto inibe a produção de células cancerígenas quanto induz a inibição angiogênese (inibição da vascularização) da célula cancerosa levando o tumor a apoptose.

Com base na literatura exposta anteriormente e nos resultados do teste microbiológico de difusão em disco através do ágar, pode-se sugerir que os extratos aquosos da folha, flor e

da raíz da *Taraxacum officinale* (Dente-de-leão) tem ação anticancerígena e/ou redutora de tumores, tendo em vista a diminuição do estresse oxidativo das cepas bacterianas de *Escherichia coli*.

## 7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pode-se especular que os extratos aquosos estudados apresentam constituintes fitoquímicos que em associação com os antibióticos, indicam certo sinergismo medicamentoso o que potencializou o efeito dos antibióticos.

Com relação aos tipos de extratos estudados, os extratos aquosos da flor e raiz da espécie *Taraxacum officinale*, apresentou a formação de halos de inibição para as linhagens selvagem e sensível, com correlação ao efeito antibacteriano. Já no que diz respeito ao efeito antioxidante, o extrato da flor não obteve sucesso terapêutico em ambas as cepas.

Mediante a literatura e com base nos referentes resultados, pode-se sugerir também que os extratos aquosos da folha, flor e raiz da espécie deste estudo, obtém ação anticancerígena e/ou redutora de tumores, fundamentado na diminuição do estresse oxidativo das bactérias *Escherichia coli* AB1157 e BW9091.

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHMAD, V. U. et al. *Taraxacin*, a new guaianolide from *Taraxacum wallichii*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 1010–1011, 2000.

ALEXANDRE, R. F. et al. O. Interações entre fármacos e medicamentos fitoterápicos à base de ginkgo ou ginseng. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 18, n. 1, p.117-126, mar. 2008.

ALONSO, J. R. **Tratado de fitomedicina, bases clínicas e farmacológicas**. Revista Buenos Aires: Ediciones SRL, 2000. 743p.

Apresentação da técnica de difusão em disco em meio ágar nutrient, com discos arranjados, de maneira que não haja sobreposição dos halos: SILVA, EDSON DE JESUS; Estudo dos Efeitos Biológicos de Extratos Aquosos de *Schinus terebinthifolius* Raddi, sobre a fração de sobrevivência de cepas mutantes e selvagens de *Escherichia coli*. / Edson de Jesus da Silva. - Rio de Janeiro, 2018.

BARBOSA, D. F.; LEMOS, P. C. P. A medicina na Grécia antiga. **Revista de Medicina**, [s.l.], v. 86, n. 2, p. 117 - 119, 20 jun. 2007.

BARBOSA, K. B. F. et al., Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.

BARROSO, G.M. **Sistemática de angiospermas do Brasil**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 19091. 398p.

BARREIROS, A. L. B. S. et al. Estresse oxidativo: relação entre gerações de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.

BILA, D. M.; DEZOTTI, M. Fármacos no meio ambiente. **Química Nova**, v. 26, n. 4, p. 523-530, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Portal da Saúde**. Plantas de Interesse ao SUS. 2014.

CAMPOS, L.C.; TRABULSI, L.R. et.al. **Escherichia**. In: Microbiologia. 3 ed. São Paulo : Atheneu, 2002, p.215-228.

CELI, P. O papel do estresse oxidativo na saúde e produção de pequenos ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39 (suplemento especial), p. 348-363, 2010.

CERUKS, M. et al. Constituintes fenólicos polares de *Schinus terebinthifolius* Raddi (*Anacardiaceae*). **Química Nova**, [s.l.], v. 30, n. 3, p. 597-599, 2007.

COSTA, A. F. **Farmacognosia**. 4ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979. V2. 1010p.

COWAN, M. M. Plant Products as Antimicrobial Agents. **Clin. Microbiol. Rev.**, [s.l.], v. 12, n. 4, p.564-582, 1999.

CRONQUIST, A. F. Farmacognosia. 4.ed.Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 1979. V.2. 1010p.

DARIUSZ JEDREJEK, B. et al., Comparative phytochemical, cytotoxicity, antioxidant and haemostatic studies of *Taraxacum officinale* root preparations. **Revista Accepted Manuscript**. 2019.

DEGÁSPARI, C. H. et al. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência Agrotécnica**, [s.l.], v. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.

EL-MASSRY, K.F. et al. Chemical compositions and antioxidant/antimicrobial activities of various samples prepared from *Schinus terebinthifolius* leaves cultivated in Egypt. **J Agric Food Chem**, v. 57, p. 5265–5270, 2009.

Estrutura química do grupo heterogêneo das saponinas: COSTA, ALOÍSIO FERNANDES, Farmacognosia 3º Ed. Lisboa: **Fundação Calouste Gulbenkian**, 2001.

FABRI, R. L. et al. Potencial antioxidante e antimicrobiano de espécies da família Asteraceae. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, v.13, n.2, p.183-189, 2011.

FARAG, S. F. Polyphenolic compounds from the leaves of *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Bull. Pharm. Sci**, [s.l.], v. 31, p. 319-329, 2008.

FARIA, T. C. et al. Literature Review on the Biological Effects of *Taraxacum officinale* Plant in Therapy. **Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**, v.7, ed.3, p.96, 2019.

FEINSTEIN, A. R. Why clinical epidemiology. **Clin Research** 1973; 20: 821-5.

FERREIRA, J. C. O que realmente significa o valor de p?. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, 2015.

FUGH-BERMAN, A.; ERNST, E. Herb-drug interactions: Review and assessment of report reliability. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [s.l.], v. 52, n. 5, p.587-595, 20 dez. 2001.

GIULIANI, C. et al. The flavonoid quercetin inhibits thyroid-restricted genes expression and Nthyroid function. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 66, p.23-29, abr. 2014.

GUERRA, M. P.; NODARI, R. O. Biodiversidade aspectos biológicos, geográficos, legais e éticos. In: Simões, C. M. O., Schenkel, E. P., Gosmann, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A., Petrovick, P. R. (Ed.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6. ed. Porto Alegre: **Editora da UFRGS**, p.14-28, 2007.

GOMES, F. S. et al. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**. [s.l.], v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013.

ISHII, S.; SADOWSKY, M. J. Escherichia coli in the Environment: Implications for Water Quality and Human Health. **Microbes and Environments**, [s.l.], v. 23, n. 2, p.101-108, 2008.

JOHANN, S. et al. Inhibitory effect of extracts from Brazilian medicinal plants on the adhesion of *Candida albicans* to buccal epithelial cells. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. [s.l.], v. 24, n. 11, p. 2459-2464, 2008.

KISIEL, W., BARSZCZ, B., 2000. Further sesquiterpenoids and phenolics from *Taraxacum officinale*. **Revista Fitoterapia** 71, 269–273

KISSMANN, K. G.; GROTH, D. **Plantas infestantes e nocivas**. São Paulo: Basf Brasileira, Tomo II. P. 798, 1992.

LEITE, N. F. et al., Actividad antiparasitaria in vitro citotóxica de cariofileno y eugenol contra *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania brasiliensis*. **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18, n. 4, p. 522-528, 2013.

LORENZI, H; MATOS F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. São Paulo: Instituto Plantarum; 2008.

\_\_\_\_\_ **Plantas daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais**. 2.ed. Nova Odessa: Plantarum, 1991. 440p.

\_\_\_\_\_ **Schinus terebinthifolius Raddi**. In: LORENZI, H; MATOS F.J.A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa - São Paulo: Instituto Plantarum, 2008. p. 63.

\_\_\_\_\_ **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002. 512 p

MACHADO, L. P. et al., Lesão oxidativa eritrocitária e mecanismos antioxidantes de interesse em Medicina Veterinária. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 8, n. 1, p. 84-94, 2009.

MACHADO, J. A. et al. In vitro Evaluation of the antimicrobial potential association of *Schinus terebinthifolius* Raddi and *Syzygium aromaticum* L. **Journal of Pharmacy**. [s.l.], v.2,n. 3, p. 438-443, 2012.

MALIK, M. S. et al. Studies on the essential oil of *Schinus terebinthifolius*. **Science International**. [s.l.], v. 6, n. 4, p. 351-352, 1994.

MARTINS, C. R. et al. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, [s.l.], v. 36, n. 8, p.1248-1255, 2013.

Milek, D. M. M. et al. Polyphenols Content, Antioxidant Activity, and Cytotoxicity Assessment of *Taraxacumofficinale* Extracts Prepared through the Micelle-Mediated Extraction Method. **Revista molecules**, 2019.

NASCIMENTO, G. G. F. et al. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, [s.l.], v. 31, n. 4, p.247-256,out. 2000.

NASCIMENTO, J. E. et al. Estudo fitoquímico e bioensaio toxicológico frente a larvas de

*Artemia salina* Leach. de três espécies medicinais do gênero *Phyllanthus* (Phyllanthaceae). **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 29, n.2, p. 143- 148, 2008.

NEWALL, C. A. et al. *Plantas Medicinas: Guia para profissional de saúde*. Ed. Premier, 2002.

NICOLETTI, Maria Aparecida et al. Principais interações no uso de medicamentos fitoterápicos. **Infarma**, [s.l.], v. 19, n. 1/2, p. 32-40, 2007.

Nome popular, parte usada, rendimento e prospecção química dos extratos da família Asteraceae. Disponível em: **Rev. bras. plantas med.** v.13 n.2, 2011

OLIVEIRA, M. C. de; SCHOFFEN, J. P. F. Oxidative stress action in cellular aging. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 6, p. 1333-1342, 2010.

PAIVA, P.M.G. et al. **Antimicrobial activity of secondary metabolites and lectins from plants**. In: MENDEZ-VILLAS, A. **Current research, technology and education topics in applied microbiology and microbial biotechnology**. Formatex Research Center: Espanha, p.396-406. 2010.

PANIZZA, S. **Plantas que curam (cheiro de mato)**. 16.ed. São Paulo: IBRASA,1996. 279p.

Partes da planta *Taraxacum Officinale*. Publicado por lasmonedasdejudas el enero 27, 2015.

Princípios ativos encontrados em *Taraxacum officinale*. Disponível em: [www.chemfaces.com.br](http://www.chemfaces.com.br)

Princípio do teste de suscetibilidade pela metodologia do disco-difusão: [anvisa.gov.br](http://anvisa.gov.br). Acesso em: 03 nov. 2018

PORTO, L. C. S. et al. Evaluation of acute and subacute toxicity and mutagenic activity of the aqueous extract of pecan shells [*Carya illinoensis* (Wangenh.) K. Koch]. **Food and Chemical Toxicology**, [s.l.], v. 59, p.579-585, set. 2013.

RIBEIRO, K. S.; GUIMARÃES, A. L. A. O uso de medicamentos à base de plantas medicinais por médicos do SUS no município de Teresópolis/RJ. **Revista Agrogeoambiental, Pouso Alegre**, Edição Especial n. 1, p. 61-65, ago. 2013.

ROCK, C. L. et al. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrientes: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 96, p. 693-702, 1996.

SALEM, M. Z. et al. Studies on biological activities and phytochemicals composition of Hibiscus species-A review. **Life Science Journal**, v. 11, n. 5, p. 1-8, 2014.

SANTOS, M. R. G. et al. Brief review on the medicinal uses and antimicrobial activity of different parts of *Schinus terebinthifolius raddi*. **International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences**, [s.l.], v. 7, n. 12, p.1-7, out. 2015.

SEO, S.-W. et al., *Taraxacum officinale* protects against cholecystokinin-induced acute pancreatitis in rats. **World Journal of Gastroenterology**, 11, 597–599, 2005.

SILVA, C. R. et al. Absence of mutagenic and citotoxic potentiality of senna (*Cassia angustifolia* Vahl.) evaluated by microbiological tests. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 14, p. 1- 2, 2004.

SILVA, M. M. da et al. *Schinus terebinthifolius*: phenolic constituents and in vitro antioxidant, antiproliferative and in vivo anti-inflammatory activities. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s.l.], v. 27, n. 4, p.445-452, jul. 2017.

SILVA E. J. et al. Study of the biological effects of aqueous extracts of schinus terebinthifolius raddi, on the survival fraction of mutant and wild strains of escherichia coli. **Merit Rearch Jornals** v 6 p 89, 2018.

TAKASAKI M. et al. Anti-carcinogenic activity of Taraxacum plant I. **Biol Pharm Bull** 22: 602-605, 1999.

TAKASAKI M. et al. Anti-carcinogenic activity of Taraxacum plant I. **Biol Pharm Bull** 22: 606-610, 1999

*Taraxacum Officinale*. Disponível em: <https://unibave.net/noticia/academicos-de-agronomia-fazem-degustacao-de-plantas-alimenticias-nao-convencionais/taraxacum-officinale>. Acesso em: 03 nov. 2018.

TELES, D. G.; COSTA, M. M.. Estudo da ação antimicrobiana conjunta de extratos aquosos de Tansagem (*Plantago major* L., Plantaginaceae) e Romã (*Punica granatum* L.,112 Punicaceae) e interferência dos mesmos na ação da amoxicilina in vitro. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s.l.], v. 16, n. 21, p.323-328, 2014.

TESKE, M.; TRENTINI, A. M. M. **Compêndio de fitoterapia**. 3ed. Curitiba: Herbarium, 1997. p.120-121.

Teste de difusão em disco: [anvisa.gov.br](http://anvisa.gov.br). Acesso em: 03 nov. 2018

VELÁZQUEZ, E. et al. Antioxidant activity of Paraguayan plant extracts. **Revista Fitoterapia**, [s.l.], v. 74, n. 1-2, p.91-97, fev. 2003.

VERMA M, et al. Biologia de sistemas 'Domino' e 'A' do ATP. **Biochim Biophys Acta** (1): 19-29, 2013.

WILLIAMSON, E. M. Interactions between herbal and conventional medicines. **Expert Opinion on Drug Safety**, [s.l.], v. 4, n. 2, p.355-378, mar. 2005.

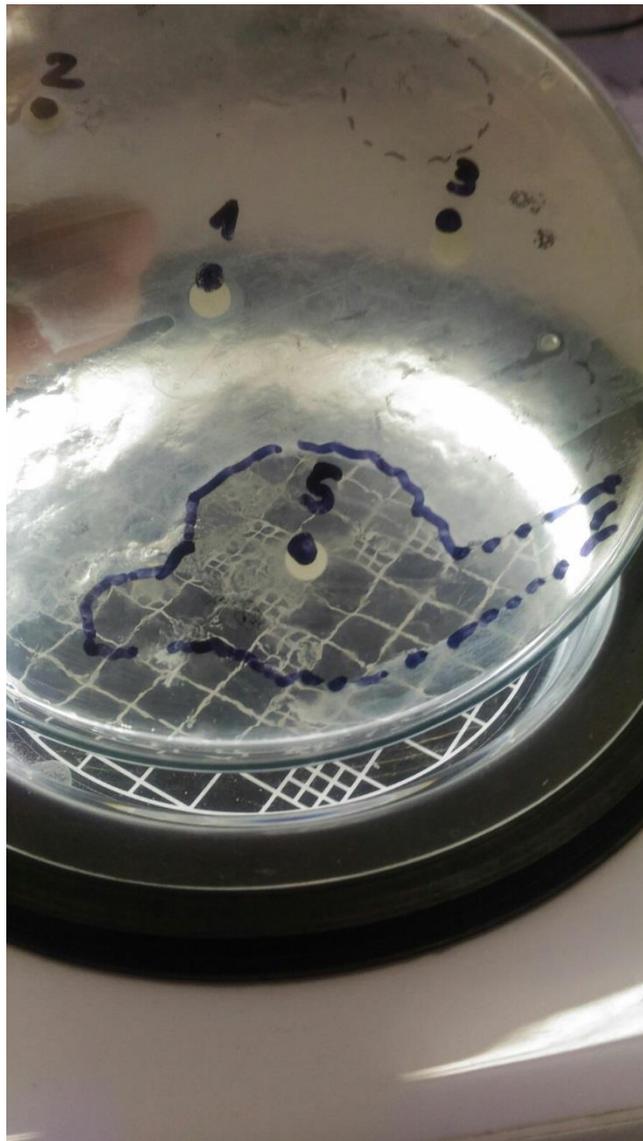
ZHU, M., WONG, P.Y., LI, R.C. Effects of *Taraxacum mongolicum* on the bioavailability and disposition of ciprofloxacin in rats. **Journal of Pharmaceutical Sciences** 88, 632–634, 1999.

## 9. ANEXOS

### ANEXO I

- Formação de halo mais significativa:

Figura 31 – Halo de inibição do crescimento bacteriano do Extrato da flor da *Taraxacum officinale* 12 $\mu$ l associado à amoxicilina 12 $\mu$ l sobre a cepa *E.coli* AB1157.



Halo em diâmetro = 80 mm

Fonte: Próprio autor

## ANEXO II

- Artigos Publicados

Diré et al Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development. 2019; 7(3): 94-99

Available online on 15.06.2019 at <http://ajprd.com>



**Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development**  
Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2013-19, publisher and licensee AJPRD. This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited



Open  Access

Review Article

**Literature Review on the Biological Effects of *Taraxacum Officinale* Plant in Therapy.**

**Faria T.C.<sup>1</sup>, Nascimento C. C. H. C.<sup>1</sup>, Vasconcelos S. D. D. De.<sup>1,3</sup>, Stephens P. R. S.<sup>4</sup>, Saranraj P.<sup>5</sup>, Barreto A. S<sup>1</sup>, Diré G.F<sup>1,2\*</sup>.**

<sup>1</sup>Laboratory of Chemical and Biological Analysis (LAQB), Foundation State University Center of the West Zone (UEZO), Avenue Manuel Caldeira de Alvarenga, 1203, Campo Grande, Rio de Janeiro, 23070-200, Brazil.

<sup>2</sup>Estácio de Sá University (UNESA), Rio De Janeiro, Brazil.

<sup>3</sup>Federal Center of Technological Education Celso Suckow da Fonseca- CEFET-NI, Rio de Janeiro, RJ- Brazil.

<sup>4</sup>Laboratory of Innovations in Therapies, Teaching and Bioproducts/ LITEB, Oswaldo Cruz Institute, IOC/ FIOCRUZ).

<sup>5</sup>Department of Microbiology, Sacred Heart College (Autonomous), Tirupattur, Tami Nadu, India.