

UNIVERSIDADE REGIONAL DO CARIRI – URCA
CENTRO DE CIENCIAS BIOLOGICAS DA SAÚDE-CCBS
DEPARTAMENTO DE QUIMICA BIOLOGICA-DQB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOPROSPECÇÃO
MOLECULAR-PPBM

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E
FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS DE
TROPIDURUS HISPIDUS* (SPIX, 1825) E *TROPIDURUS
***SEMITAENIATUS* (Spix,1825) (SQUAMATA:TROPIDURIDAE)**

ISRAEL JUNIO MARTINS DOS SANTOS

CRATO-CE, 2011

ISRAEL JUNIO MARTINS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E
FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS DE
TROPIDURUS HISPIDUS (SPIX, 1825) E *TROPIDURUS
SEMITAENIATUS* (Spix,1825) (SQUAMATA:TROPIDURIDAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri como requisito para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais/Microbiologia/Farmacologia.

Orientador:

Prof. Dr. Waltécio de Oliveira Almeida

Co-orientador:

Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

CRATO – CE, 2011

Santos, Israel Junio Martins dos.

S237a Avaliação da atividade microbiológica e farmacológica de produtos naturais de *TROPIDURUS HISPIDUS* (SPIX, 1825) E *TROPIDURUS SEMITAENLATUS* (spix,1825) (squamata:tropiduridae)/ Israel Junio Martins dos Santos. - Crato-CE, 2011.

106p.; il.; color.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioprospecção Molecular da Universidade Regional do Cariri - URCA.

Orientador: Prof. Dr. Waltécio de Oliveira Almeida

Co-orientador: Prof. Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho

1. Etnozoologia, 2. Zooterapia, 3. Atividade Microbiologia e Anti-inflamatória e Produtos Naturais. I. Título.

CDD: 615.323

ISRAEL JUNIO MARTINS DOS SANTOS

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E
FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS DE
TROPIDURUS HISPIDUS (SPIX, 1825) E *TROPIDURUS
SEMITAENIATUS* (Spix,1825) (SQUAMATA:TROPIDURIDAE)**

Dissertação submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Bioprospecção molecular da Universidade Regional do Cariri – URCA, como requisito para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Bioprospecção de Produtos Naturais/Microbiologia/Farmacologia.

Aprovada em 25/03/2011

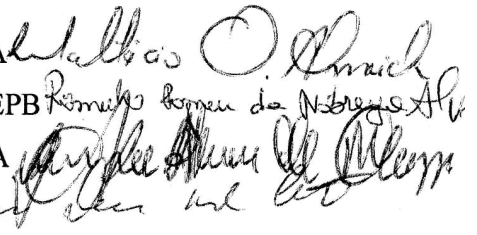
BANCA EXAMINADORA

Dr. Waltécio de Oliveira Almeida – Presidente Orientador – URCA

Dr. Rômulo Romeu da Nóbrega Alves – Examinador Externo – UEPB

Dr. Irwin Rose Alencar de Menezes – Examinador Interno – URCA

Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho- Co-orientador-URCA



CRATO – CE, 2011

DEDICO a minha esposa Janeth,
e minhas filhas, por estarem
sempre ao meu lado e pelo apoio
dado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por toda sorte de bênçãos concedidas e pelo dom da Vida. Sei que sem Ele nada poderia ter feito, sendo tudo isso para sua glória;

A Universidade Regional do Cariri-URCA na qual tive a grande oportunidade de realizar o tão sonhado curso de Mestrado Acadêmico.

A coordenação do programa de pós-graduação em Bioprospecção Molecular pelo apoio e oportunidade de realizar um curso de nível de mestrado;

Ao Departamento de Química Biológica, pelo apoio na realização deste curso;

À FUNCAP pelo apoio financeiro que muito contribuiu para o desenvolvimento deste trabalho;

Ao IBAMA pela Licença de Coleta concedida que sem ela não seria possível a realização da pesquisa;

À Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ) e Faculdade de Ciências Aplicadas Leão Sampaio, pela concessão de linhagens de roedores para os ensaios *in vivo*;

Ao meu orientador professor Dr. Waltécio de Oliveira Almeida pelas valorosas críticas e ensinamentos, pois me fizeram crescer muito nesse período de curso, um grande pesquisador, que mesmo jovem como é, conseguiu o que poucos conseguem no meio acadêmico. Quero um dia chegar lá também;

Ao professor Dr. Henrique Douglas Melo Coutinho, que aceitou de prontidão a co-orientação no desenvolvimento desse trabalho e foi muito mais que um co-orientador. um grande pesquisador, exemplo de profissional e, sobretudo uma pessoa super amiga sempre disposta a ajudar com um ar animador e empolgante;

Ao professor Dr. Rômulo Romeu Nóbrega Alves, que se dispôs a colaborar nos trabalhos, mesmo sem conhecer-me pessoalmente. Um obrigado especial;

Ao professor Dr. José Galberto Martins da Costa, que abriu as portas do LPPN e permitiu usufruir o que precisei para minha pesquisa;

A professora Dr^a. Marta Regina Kerntopf, que não hesitou em colaborar quando precisei e com todo seu carinho demonstrado muito me ensinou;

Ao professor Dr. Irwin Rose de Alencar Menezes que também abriu as portas do Laboratório de Farmacologia e foi de grande ajuda no desenrolar dos testes farmacológicos;

Aos professores do mestrado que sempre ensinaram com prazer e disposição contribuindo para o aprendizado dos alunos;

Aos meus pais que sempre acreditaram em mim e com muito esforço investiram em minha educação para que tivesse o sucesso que sempre desejaram para os filhos. Muito obrigado por tudo, o esforço valeu a pena;

Ao meu amigo Edinaldo Fagner Ferreira Matias que sempre ajudou no que precisei e estive sempre ao meu lado desde a época do concurso temporário para professor da URCA. Ajudou-me muito com sua experiência e inteligência;

A minha amiga Gerlânia de Oliveira Leite que sempre fez o possível e impossível para me ajudar no que fosse necessário durante todo o curso, abrindo mão de domingos e feriados para ensinar e ajudar-nos mais trabalhosos testes. Muito Obrigado;

Aos meus amigos Diego Aves Teles e José Guilherme Gonçalves de Sousa que estavam sempre prontos pro que precisasse em minha pesquisa, correndo riscos e se cansando em coletas das mais trabalhosas; ficando até tarde no laboratório para ajudar a dissecar lagartos, aguentado mau cheiro de alguns e dispondo sempre de paciência em todos os momentos. Valeu pessoal!

Ao meu amigo Samuel Cardozo Ribeiro que com sua experiência em trabalho de campo e pesquisa foi de grande ajuda tanto nos períodos de coleta como depois destes;

A Stefano e Emanuele, também amigos importantes, pelo apoio na realização dos testes químicos no LPPN;

Aos colegas de mestrado que sempre foram bem unidos ajudando uns aos outros e assim fazendo do curso um momento de união e crescimento mútuo;

A todos que direta e indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

"É melhor tentar e falhar, que preocupar-se e ver a vida passar; é melhor tentar, ainda que em vão, que sentar-se fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar, que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver..."

Martin Luther King

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	12
LISTA DE TABELAS	13
LISTA DE ABREVIATURAS	14
RESUMO	17
ABSTRACT	18
INTRODUÇÃO	19
ZOOTERAPIA	21
REPTEIS E A ZOOTERAPIA	22
O GÊNERO <i>TROPIDURUS</i>	24
ETNOFARMACOLOGIA ANIMAL	28
ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS	30
OBJETIVOS	32
OBJETIVO GERAL	32
OBJETIVOS ESPECIFICOS	32
MATERIAL E MÉTODOS	33
ÁREA DE COLETA	33
ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA	33
MATERIAL ZOOLOGICO	34
MATERIAIS LABORATORIAIS UTILIZADOS	35
<i>Drogas, reagentes e soluções</i>	35
<i>Material permanente e equipamentos utilizados</i>	36
PREPARO DO EXTRATO METANÓLICO DA PELE DE <i>TROPIDURUS HISPIDUS</i>	37
PREPARO DOS DECOCTOS DE <i>T. HISPIDUS</i> E <i>T. SEMITAENIATUS</i>	37
EXTRAÇÃO DO OLÉO FIXO DA BANHA DE <i>T. HISPIDUS</i>	38
PROSPECÇÃO QUÍMICA	38

TESTE MICROBIOLÓGICO: PREPARO DAS SOLUÇÕES A PARTIR DO EXTRATO E DOS DECOCTOS	39
<i>Preparo da solução inicial e das soluções de teste.</i>	39
<i>Microorganismos</i>	39
<i>Meios de cultura</i>	40
<i>Preparo e padronização de inóculos bacterianos</i>	40
<i>Drogas</i>	40
<i>Avaliação Antimicrobiana: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)</i>	41
<i>CIM pelo Método de Microdiluição em Caldo: Execução e Leitura dos Ensaio</i>	41
<i>Avaliação da interferência dos extratos sobre a resistência aos antibióticos aminoglicosídeos: Execução e Leitura do Ensaio</i>	42
TESTE FARMACOLÓGICO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINFLAMATÓRIO DO ÓLEO DE T. HISPIDUS (OTH)	42
<i>OTH (Óleo de Tropicurus hispidus)</i>	43
<i>Animais</i>	43
<i>Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton</i>	44
<i>Edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton</i>	44
<i>Edema de orelha induzido por ácido araquidônico</i>	45
<i>Edema de orelha induzido por capsaicina</i>	45
<i>Edema de orelha induzido pela injeção subcutânea de histamina</i>	46
<i>Edema de orelha induzido por fenol</i>	46
<i>Quantificação do edema e do efeito inibitório médio</i>	47
ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS	47
RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
RENDIMENTOS DAS AMOSTRAS	48
ANALISE DA PROSPECÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO METANOLICO E DECOCTO DE T. HISPIDUS E DECOCTO DE T. SEMITAENIATUS	49
ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DE ANTIBIOTICOS DO EXTRATO, DECOCTO E OLEO DE T. HISPIDUS E DECOCTO DE T. SEMITAENIATUS.	51
AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO ÓLEO DE T. HISPIDUS	58
<i>Efeito do tratamento tópico do OTH nos modelos de inflamação cutânea</i>	59
<i>Avaliação do modelo de edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton</i>	59
<i>Avaliação do modelo de edema de orelha induzida por aplicação múltipla de óleo de cróton</i>	61
<i>Avaliação do modelo edema de orelha induzido por Ácido Araquidônico (AA)</i>	63
<i>Avaliação do modelo de edema de orelha induzido por fenol</i>	65
<i>Avaliação do edema de orelha induzido por capsaicina</i>	66
<i>Avaliação do edema de orelha induzida por aplicação subcutânea de histamina</i>	67
<i>Análise do efeito anti-inflamatório do OTH frente aos modelos de indução de edema</i>	68

CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICE	100
ANEXOS	104
PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA	105

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Exemplos de répteis utilizados na medicina popular. A: (<i>Tupinambis merianae</i>);B: (<i>Caudisona durissa</i>);C:(<i>Phrynops tuberosus</i>); D: (<i>Iguana iguana</i>)	23
FIGURA 2	Lagartos do gênero <i>Tropidurus</i> usados na medicina tradicional no Brasil A: <i>Tropidutus hispidus</i> ; B: <i>Tropidurus semitaeniatus</i> .	27
FIGURA 3.	Estrutura de Alcaloide encontrado em pele de anfíbios	50
FIGURA 4.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton (OC) em camundongos <i>Swiss</i>	61
FIGURA 5.	Curva tempo-resposta do efeito do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de Óleo de Croton (OC) em camundongos <i>Swiss</i> .	62
FIGURA 6.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton (OC) em camundongos <i>Swiss</i> .	63
FIGURA 7.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por ácido araquidônico (AA) em camundongos <i>Swiss</i> .	64
FIGURA 8.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por fenol em camundongos <i>Swiss</i> .	65
FIGURA 9.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por capsaicina em camundongos <i>Swiss</i> .	66
FIGURA 10.	Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação intradérmica de histamina em camundongos <i>Swiss</i> .	67

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Espécies utilizadas nas análises microbiológicas	34
TABELA 2.	Peso fresco, Peso seco e rendimento dos extratos metanólicos, decoctos e óleo de <i>Tropidurus hispidus</i> e <i>Tropidurus semitaeniatus</i> (g).	48
TABELA 3.	Resultado da prospecção química do extrato e decocto de <i>T. hispidus</i> e decocto <i>T. semitaeniatus</i>	49
TABELA 4.	Valores da CIM ($\mu\text{g/ml}$) de aminoglicosídeos na presença de 128 $\mu\text{g/mL}$ dos Decoctos de <i>T. hispidus</i> e <i>T. semitaeniatus</i> contra <i>Escherichia coli</i> 27, <i>Staphylococcus aureus</i> 358 e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> RB1	53
TABELA 5.	Valores da CIM ($\mu\text{g/ml}$) de aminoglicosídeos na presença de 128 $\mu\text{g/mL}$ de Extrato Metanólico da pele de <i>T. hispidus</i> e Óleo de <i>T. hispidus</i> contra <i>Escherichia coli</i> 27, <i>Staphylococcus aureus</i> 358 e <i>Pseudomonas aeruginosa</i> RB1	54

LISTA DE ABREVIATURAS

% por cento; percentual
+ mais
– menos
× vezes, multiplicado por
± mais ou menos
> maior que, superior a
≥ maior ou igual a
= igual a
< menor que, inferior a
Ø diâmetro
α alfa
β beta
γ gama
δ, Δ delta
K capa
λ comprimento de onda (lambda)
μL – microlitro(s)
μm – micrômetro(s)
ω- ômega
Å - angström
AA – ácido araquidônico
AINE's – anti-inflamatórios não esteroides
ANOVA – *Analysis of Variance* (Análise de variância, inglês)
BK1 – receptor de bradicinina-1
°C – graus Celsius
C3a , C3b e C5a – proteínas do sistema complemento
Ca²⁺ - cátion cálcio bivalente
CAP – capsaicina
CE – Estado do Ceará (Brasil)
CGRP – peptídeo relacionado ao gene da calcitonina
COX – ciclooxigenase
COX-1 – ciclooxigenase-1
COX-2 – ciclooxigenase-2
E.P.M. – erro padrão da média.
DEX – dexametasona
DHA – ácido docosahexaenoico
DMSO – dimetilsulfóxido
DTH – Decocto de *Tropidurus hispidus*(Spix, 1825)
DTS – Decocto de *Tropidurus semitaeniatus*(Spix, 1825)
EIM – efeito inibitório médio da inflamação
EPA – ácido eicosapentaenoico
EMTH – Extrato Metanólico de *Tropidurus hispidus*(Spix, 1825)
et al., – e outros; e colaboradores (latim, abrev. de *et alii*)
g – grama(s)
h – hora(s)
IL-1 – interleucina-1
IL-1_α – interleucina-1-alfa

IL-1_β – interleucina-1-beta
IL-6 – interleucina-6
IL-8 – interleucina-8
IND – indometacina
i.p. – via intraperitoneal
kg – quilograma(s)
liso-PAF - lisogliceril-fosforilcolina
LOX – lipoxigenase
5-LOX – 5-lipoxigenase
12-LOX – 12-lipoxigenase
15-LOX – 15-lipoxigenase
LFQM – Laboratório de Farmacologia e Química Molecular (URCA)
LPPN – Laboratório de Pesquisa de Produtos Naturais (URCA)
LTB₄ – leucotrieno B₄
LTC₄ – leucotrieno C₄
LTD₄ – leucotrieno D₄
m – metro(s)
m² – metros quadrados
m_{od} – massa do disco retirado da orelha direita
m_{oe} – massa do disco retirado da orelha esquerda
MAPK – proteína quinase ativada por mitógeno
mg – miligrama(s)
mg/kg – miligramas de concentração da solução por quilograma de massa corpórea do animal
mg/mL – miligramas de soluto por mililitro de solvente (água destilada ou salina)
min – minuto(s)
mL – mililitro(s)
mm – milímetro(s)
8-MOP – 8-metoxipsoraléina
MPE_{cont} – média do percentual de edema do grupo controle negativo
n – número da amostra
n-3 – ômega 3
n-6 – ômega 6
NaCl – cloreto de sódio
NF- κ B – *Nucleus factor – kappa B* (Fator de transcrição nuclear – capa B)
OC – óleo de cróton
OTH – óleo fixo de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825).
P – significância estatística (erro)
PAF – fator de ativação plaquetária
PE – percentual de edema
PGD₂ – prostaglandina D₂
PGE₁ – prostaglandina E₁
PGE₂ – prostaglandina E₂
PKC – proteína quinase C
PLA₂ – fosfolipase A₂
PMN – polimorfonucleares (neutrófilos)
® - marca registrada
ROS – *reactive oxygen species* (espécie reativa de oxigênio, inglês)
S – *South* (sul)
TLR – *Toll-like receptors* (Receptores semelhantes ao Toll, inglês)

TPA – 12-o-tetradecanoilforbol-13-acetato
TXA₂ – tromboxano A₂
UECE – Universidade Estadual do Ceará
UFC – Universidade Federal do Ceará
UFPB – Universidade Federal da Paraíba
URCA – Universidade Regional do Cariri
UV – ultravioleta
UVA – ultravioleta-A

RESUMO

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE MICROBIOLÓGICA E FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS DE *TROPIDURUS HISPIDUS* (Spix, 1825) E *TROPIDURUS SEMITAENIATUS* (Spix, 1825) (SQUAMATA: TROPIDURIDAE)

Dentre as espécies de animais mais utilizadas na prática zoterápica estão os répteis. O gênero *Tropidurus* representa um desses grupos de répteis utilizados na medicina tradicional. As espécies *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* são usadas na medicina tradicional em várias regiões do Nordeste brasileiro. Seu uso medicinal envolve o tratamento de doenças como verrugas, dores de garganta, amigdalites, faringites, catapora, varicela, sarampo, asma, alcoolismo e dermatomicose. São usados inteiros e na forma de chá (decoctos). Diante disso este estudo teve por objetivo avaliar a atividade microbiológica e farmacológica de produtos naturais obtidos das espécies *T. hispidus* e *T. semitaeniatus*. Os animais foram coletados na Biorregião do Araripe no Município de Crato-Ce. Foram coletados 50 *T. hispidus* e 20 *T. semitaeniatus*. Os mesmos foram sacrificados por congelamento e dissecados para retirada da pele e da banha. Foram preparados extratos da pele de *T. hispidus*, (com rendimento de 1,9672g), assim como o decocto desta espécie (com um rendimento total de 11,0539g) e de *T. semitaeniatus*, (com rendimento bruto de 4,4885g). Da banha de *T. hispidus* foi preparado o óleo fixo (com rendimento total de 8,4107g) para avaliar seu efeito anti-inflamatório tópico. Em relação aos extratos e decoctos foram avaliados seus efeitos antimicrobianos contra cepas bacterianas *Echerichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aureuginosa*. Frente as cepas bacterianas os extratos e decoctos não apresentaram inibição do crescimento bacteriano significativo do ponto de vista clínico, apresentando uma CIM (Concentração Inibitória Mínima) ≥ 1024 , já em associação com antibióticos aminoglicosídeos foi observado uma modulação da CIM do antibiótico Gentamicina em associação com o extrato da pele de *T. hispidus* frente a *S. Aureus*. Para a mesma cepa bacteriana foi observado uma diminuição da CIM dos aminoglicosídeos Canamicina e Amicacina em associação com os decoctos das duas espécies de lagartos assim como para *P. aureuginosa* que apresentou redução da CIM da Neomicina e Gentamicina. O extrato da pele de *T. hispidus* apresentou um antagonismo quando em associação com a Amicacina. O óleo de *T. hispidus* (OTH) foi avaliado acerca de seu efeito contra doenças de caráter inflamatório. Foi usado o modelo de edema de orelha em camundongos induzido pelos agentes flogísticos Óleo de Croton, Ácido Araquidônico, Fenol, Histamina e Capsaicina. No edema induzido pela aplicação única de Óleo de Croton o OTH puro se mostrou mais eficiente com um percentual de redução de edema de 49,1%. Na aplicação múltipla de óleo de croton a partir de 48 h até 96 h após o primeiro tratamento tópico, o efeito inibitório médio foi de 63,7%. No edema induzido por Ácido Araquidônico o OTH inibiu o edema com um percentual de 45,8%. Para o Fenol a inibição foi de 38,1% e Histamina de 49,6%. No edema induzido por capsaicina o OTH não se mostrou significativo ($p < 0,05$) na redução do edema.

Palavras Chaves: Etnozoologia, Zooterapia, Atividade Microbiologia e Anti-inflamatória e Produtos Naturais.

ABSTRACT

EVALUATION OF THE ANTIMICROBIAL AND PHARMACOLOGICAL ACTIVITIES OF NATURAL PRODUCTS OF *TROPIDURUS HISPIDUS* (Spix, 1825) AND *TROPIDURUS SEMITAENIATUS* (Spix, 1825) (SQUAMATA: TROPIDURIDAE)

Reptiles are the animal species most utilized in zootherapeutic practice. The genus *Tropidurus* represents one these groups of reptiles in traditional medicine. The species *T. hispidus* and *T. semitaeniatus* are used in traditional medicine in various regions of Northeast Brazil. Their medicinal use involves the treatment of diseases such as warts, sore throat, tonsillitis, pharyngitis, chickenpox, measles, asthma, alcoholism and dermatomycosis. They are used whole and in the form of teas (decoctions). The aim of this study was to evaluate the antimicrobial and pharmacological activity of natural products obtained from the species *T. hispidus* and *T. semitaeniatus*. The animals were collected in the bioregion of Araripe in the municipality of Crato, Ceara. Fifty *T. hispidus* and 20 *T. semitaeniatus* were collected, sacrificed by freezing, and desiccated to remove the skin and fat. Extracts of the skin of *T. hispidus* (with a yield of 1.9672 g), as well as the decoction of this species (with a total yield of 11.0539 g) and of *T. semitaeniatus* (with a crude yield of 4.4885 g) were prepared. The essential oil was obtained from the fat of *T. hispidus* (with a total yield of 8.4107 g) to evaluate its topical anti-inflammatory effect. In relation to the extracts and decoctions, their antimicrobial effects were determined against the bacterial strains *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The extracts and decoctions showed no significant inhibition of bacterial growth at clinically relevant concentrations, producing a MIC (minimal inhibitory concentration) $\geq 1024 \mu\text{g}$, but in combination with aminoglycoside antibiotics, the MIC was altered for the antibiotic gentamicin combined with the skin extract of *T. hispidus* against *S. aureus*. For the same bacterial strain, there was a decrease in MIC of the aminoglycosides kanamycin and amikacin in combination with decoctions of the two lizard species, and for *P. aeruginosa*, this was also seen in the MIC of neomycin and gentamicin. The skin extract of *T. hispidus* showed antagonism when combined with amikacin. The oil of *T. hispidus* (OTH) was evaluated with regard to its effect against inflammation. The mouse ear edema model was used to test for anti-inflammatory activity, where edema was induced by the phlogistic agents croton oil, arachidonic acid, phenol, histamine and capsaicin. In edema induced by the sole application of croton oil, pure OTH was more efficient, reducing edema by 49.1%. In the multiple application of croton oil, from 48 h up to 96 h after the first topical treatment, the mean inhibitory effect was 63.7%. In edema induced by arachidonic acid, OTH decreased edema by 45.8%. Phenol-induced edema was reduced by 38.1% and histamine-induced edema by 49.6%. In edema induced by capsaicin, OTH did not show a significant ($p < 0.05$) reduction in edema.

Key words: Ethnozoology, Zootherapy, Antimicrobial activity, Anti-inflammatory activity and Natural products.

INTRODUÇÃO

O prefixo ETNO tem sido frequentemente utilizado por significar, de maneira sintetizada, os modos que as sociedades compreendem o mundo (Martin, 1995). Quando o prefixo ETNO é usado seguido do nome de uma disciplina acadêmica, como biologia ou a zoologia, dá a entender que os pesquisadores dessas áreas estão buscando as percepções de sociedades locais dentro desses contextos (Haverroth, 1997). Desse modo, a etnozologia pode ser entendida como sendo o estudo dos conhecimentos do homem sobre os animais e também dos usos da fauna pelo homem (Bahuchet, 1992), ou parafraseando D’Olive Campos (1995), como o estudo da ciência zoológica do “Outro” construída a partir do referencial de saberes da Academia. De acordo com Rocha-Mendes *et al.*, (2005), a etnozologia é uma ferramenta interpretativa do histórico compartilhado entre homens e animais em uma determinada região. Aqui, incluem-se diferentes manifestações humanas frente à fauna, sejam estas inspiradas pela afeição, repúdio, reverência ou desprezo, indicando, por vezes, credices e aspectos cinegéticos locais. Com ela, ora obtêm-se, ora resgatam-se informações bionômicas relevantes à conservação e/ou restauração de seus bens naturais.

O conhecimento que as comunidades tradicionais têm sobre algumas espécies pode influenciar diretamente no desenvolvimento de estratégias de conservação (Alves & Rosa, 2006), porém a falta de informações e pesquisas adicionais se revela um problema na conservação dessas espécies. Teixeira (1992) chega a afirmar que a pesquisa etnozoológica no país é incipiente e admite que um dos problemas mais sérios para o estudo da etnozologia em âmbito nacional reside na falta de informações, as mais elementares e descritivas sobre a fauna nacional, aliada a uma amostragem bastante deficiente.

Em contrapartida, não se pode deixar de notar o crescente progresso que esse campo de estudo tem alcançado, mesmo diante de todas as barreiras encontradas. Em revisão realizada por Costa-Neto (2000a) um total de 246 títulos referentes a publicações que tratam, direta ou indiretamente, da conexão Homem/animal foram registrados no país e afirma que tal coletânea é um indicador do progresso da ciência etnozoológica nacional, não apenas pelo número significativo de contribuições, mas principalmente pelo incremento numérico de autores, que somam mais de duas centenas.

A etnozologia, também influencia diretamente nas questões de conservação e uso sustentável das espécies. Hunt & Vincent, (2006) advertem sobre o processo de prospecção de produtos naturais para a produção de novos fármacos, o que pode acarretar em exploração da biodiversidade com impactos negativos. Para Souto *et al.*, (2001), Almeida & Albuquerque (2002) e Alves & Rosa (2005), há uma preocupação com o uso racional e a conservação de espécies utilizadas como medicinais, pois ainda não é possível avaliar o nível de exploração dessas espécies. Há ainda outras preocupações ligadas direta ou indiretamente ao uso de espécies medicinais como a questão da saúde pública, na transmissão de doenças por meios das espécies usadas como zoterápicos (Alves & Rosa, 2005; Hunt & Vincent, 2006).

Há poucos estudos para avaliar a eficácia medicinal de espécies animais usados como remédios no Brasil. Sendo assim, o presente trabalho vem verificar a eficácia medicinal de duas espécies de lagartos usados pela medicina tradicional na biorregião do Araripe no estado do Ceará: *Tropidurus hispidus* e *Tropidurus semitaeniatus*, visando contribuir com o conhecimento etnozoológico, zoterápico e farmacológico para a região do Cariri.

REVISÃO DE LITERATURA

ZOOTERAPIA

Nos últimos anos, vários trabalhos etnobiológicos foram desenvolvidos sobre o aproveitamento dos recursos biológicos pelos povos de diferentes regiões e etnias, em especial enfocando o aspecto medicinal (Almeida & Albuquerque, 2002). Substâncias naturais de origem animal, vegetal e mineral, têm proporcionado uma fonte contínua de medicamentos desde os tempos mais antigos (David & Anderson, 1969). No Brasil, como em outros países, animais e plantas têm sido amplamente utilizados desde a antiguidade na medicina tradicional (Almeida, 2005; Alves & Rosa 2007); segundo Alves & Rosa (2006), têm desempenhado um papel significativo nas práticas de cura até os dias atuais. Apesar de sua prevalência em práticas de medicina tradicional em todo o mundo, pesquisas sobre animais usados como medicinais têm frequentemente sido negligenciadas em comparação com plantas medicinais (Alves *et al.*, 2007, 2005). Segundo Alves *et al.*, (2009) a ênfase tem sido dada em sua maioria em medicamentos a base de plantas. Além disso, as plantas são mais fáceis de coletar, armazenar e comercializar.

Por outro lado, publicações recentes têm demonstrado a importância da zooterapia em diferentes ambientes sócio-culturais, e os exemplos do uso de remédios derivados de animais, atualmente pode ser encontrado em muitas localidades urbanas e semi-urbanas, particularmente nos países em desenvolvimento (Alves & Rosa 2006, 2007b, c; 2006 Mahawar & Jaroli; Vazquez *et al.*, 2006, Alves *et al.*, 2007a; Alves *et al.*, 2008, 2010a,b). Animais têm sido estudados metodicamente pelas companhias farmacêuticas como fonte de drogas para a ciência médica moderna (Alves *et al.*, 2002). De acordo com Marques (1994) toda comunidade humana que

apresenta um sistema médico utiliza animais como fontes de remédios, sendo a isso atribuído o conceito da “hipótese da universalidade zooterápica”. No Brasil, as espécies animais têm sido utilizados medicinalmente pelas sociedades indígenas há milênios, e por descendentes dos colonos europeus durante os últimos quatro séculos. Alves (2010) documentou que pelo menos 326 espécies são usadas na medicina popular no Brasil. Essencialmente na região Norte e Nordeste, vários trabalhos relatam animais amplamente utilizados para fins terapêuticos onde o uso e a comercialização são realizados abertamente em mercados públicos (Alves *et. al.*, 2007, 2008).

Para Costa-Neto (2005) a utilização de remédios à base de animais por populações tradicionais, indígenas e/ou de baixa renda traduz-se por um saber empírico que, necessariamente, não está destituído de fundamentos científicos e, se adequadamente estudados estes conhecimentos podem gerar perspectivas para a descoberta de novas fontes de remédios para o bem-estar humano.

REPTEIS E A ZOOTHERAPIA

Os répteis são uma das entidades etnozoológicas fundamentais. Os répteis têm sido explorados para muitos propósitos e cerca de 721 espécies ocorrem no Brasil: 371 serpentes, 241 de lagartos, 67 anfisbenídeos, 6 jacarés e 36 tartarugas (Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2010).

Além do seu uso como alimento, os répteis têm sido utilizados para várias finalidades, por exemplo, negociados como animais de estimação, usados na medicina tradicional e com objetivos mágico-religioso (Alves *et al.*, 2009; Alves, 2008). Evidências de uma variedade de fontes mostra que os seres humanos têm explorado ovos, carne, sangue, óleo, casco, pele, ossos e outras partes dos répteis para fornecer matéria-prima para alimentos, fabricação de ferramentas, ornamentos, medicamentos e

objetos religiosos (Klemens & Thorbjarnarson,1995; Franke & Telecky,2001; Fitzgerald *et al.*, 2004; Zhou & Jiang, 2004; Frazier, 2005; Alves *et al.*, 2007a, b, 2008; Alves & Santana, 2008).

Na medicina tradicional popular, os répteis estão entre as espécies animais mais freqüentemente utilizados,(Figura 1), e seu papel nas práticas populares relacionadas ao tratamento e / ou prevenção de doenças foi registrado em diferentes contextos sócio-culturais em todo o mundo. (Zhou & Jiang 2004; Alves & Rosa 2006, 2007b, c; Mahawar & Jaroli 2006; Vazquez *et al.*, 2006, Alves *et al.*, 2007a; Alves & Pereira-Filho, 2007).

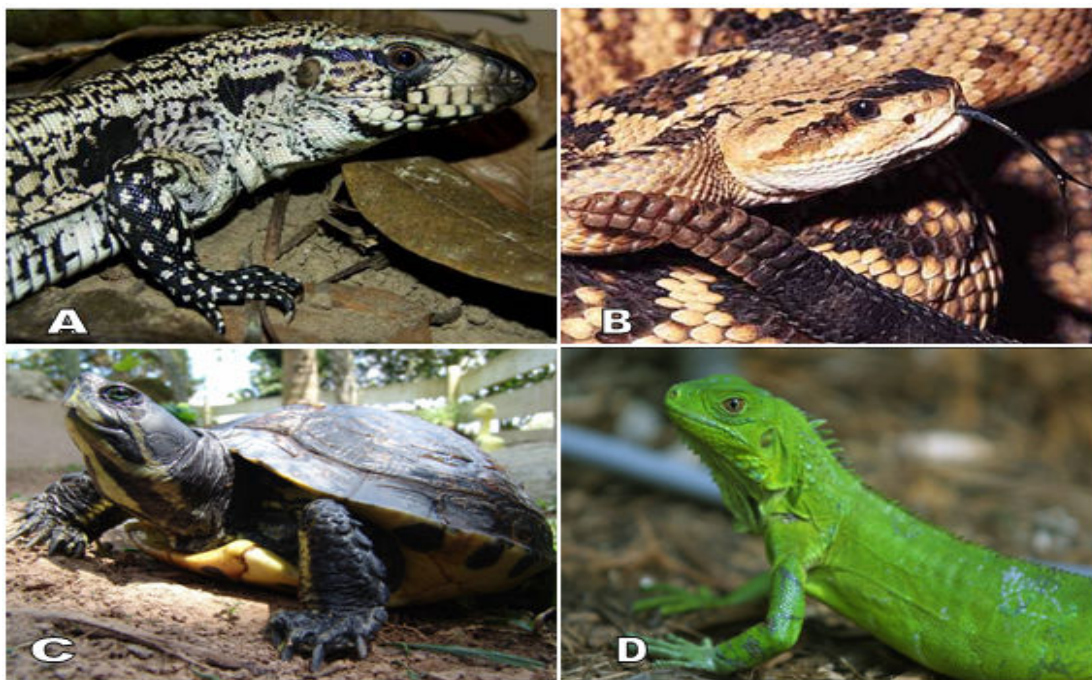


Figura1. Exemplos de répteis utilizados na medicina popular. A: (*Tupinambis merrianae*);B: (*Caudisoma durissa*);C:(*Phrynops tuberosus*); D: (*Iguana iguana*). (Ferreira *et al.*, 2009)

Alves *et al.*,(2008) relata que um total de 165 espécies de répteis pertencentes a 104 gêneros e 30 famílias são usadas na medicina popular tradicional no Brasil. Os grupos com maior número de espécies utilizadas foram serpentes (60 espécies), seguido

de lagartos (51), tartarugas e jabutis (43) e crocodilianos (11). Segundo Spata (2008), certas espécies de répteis podem ser usadas para tratar uma ou mais doenças, com posologias variadas. O reumatismo, por exemplo, é comumente tratado em comunidades tradicionais no Brasil e em outros países com a gordura do jacaré-de-papo-amarelo (*Cayman latirostris*), que é aplicada diretamente sobre os membros afetados pela doença. Já pílulas feitas de material extraído de cobras cascavel são indicadas no México para problemas como acne, dor nos ossos, doenças cardíacas e até câncer. Além disso, os répteis também são usados em práticas populares chamadas simpatias para diversos fins.

Apesar do uso intensivo de répteis para fins medicinais, há uma falta geral de informações detalhadas sobre a magnitude de seu impacto sobre as espécies envolvidas (Alves & Pereira-Filho, 2007). Infelizmente algumas espécies não estão sendo utilizadas de forma sustentável e estão sendo comercializadas ilegalmente, gerando preocupação em relação ao impacto dessa utilização sobre as populações naturais. (Alves & Filho, 2006). Populações de répteis estão sendo seriamente reduzidas em todo o mundo. A coleta de animais silvestres para subsistência ou comercialização também é indicado como fator que contribui para a queda observada em certas espécies (Gibbons *et al.*, 2000).

O GÊNERO *TROPIDURUS*

Uma das espécies de lagartos utilizados na medicina popular é a espécie *Tropidurus hispidus*, relatado em trabalhos desenvolvidos por Alves & Rosa (2007), na região nordeste do Brasil. Outras espécies do gênero *Tropidurus*, como *Tropidurus*

semitaeniatus, *T. torquatus* (Wied 1820), também são apontadas em relação ao uso popular medicinal (Alves *et al.*, 2007).

Segundo Barbosa *et al.*, (2007), *T. hispidus*, é usado no tratamento de verrugas em uma comunidade da Paraíba. Alves & Rosa (2007), apontam em suas pesquisas o uso popular desta espécie no tratamento de dores de garganta, amigdalites e faringites. Costa-Neto (2000), aponta a utilização medicinal popular de *Tropidurus torquatus* no tratamento de catapora e varicela.

Os lagartos do gênero *Tropidurus* ocorrem na América do sul continental, no leste e oeste dos Andes e ilhas Galápagos (Rodrigues, 1987), sendo encontrados em savanas, cerrado, caatinga, florestas e habitats de planície da América do Sul (Rodrigues, 1987). Todos são insetívoros (Vitt, 1991, 1993, 1995) com uma tendência para a especialização de formigas em espécies arbóreas (Vitt & Zani, 1996).

Tropidurus hispidus (Figura 2) também conhecido como Lagartixa-preta ou Catenga, habita em 14 estados brasileiros, sendo 9 na região Nordeste (Díaz-Uriarte, 2000; Abreu *et al.*, 2002). Encontrado em diversos ambientes, principalmente em troncos de árvores, rochas e muros (Díaz-Uriarte, 2000; Abreu *et al.*, 2002) e localizados principalmente em áreas abertas (heliófilas) (Kohlsdorf, 2001). Possuem atividade diurna, são territoriais, forrageadores sedentários e oportunistas (Vitt, 1995; Rodrigues, 1987, 1988; Vitt, 1991; Bergallo & Rocha, 1993; Vitt *et al.*, 1997; Diazuriarte, 1999). Alimenta-se essencialmente de artrópodes (Abreu *et al.*, 2002; Van Sluys *et al.*, 2004), algumas plantas, basicamente flores (Van Sluys *et al.*, 2004) e de pequenos vertebrados. Necessita de constante exposição solar, por isso é encontrado geralmente em locais abertos (Abreu *et al.*, 2002).

Tropidurus semitaeniatus é endêmico da Caatinga, distribuído do Piauí até a metade Norte da Bahia. Popularmente conhecido como "lagartixa de lajeiro" é um

pequeno lagarto de hábito diurno, encontrado em amplas superfícies rochosas (lajeiros) (Figura 2), de corpo achatado dorsoventralmente, especializado para inserir-se em pequenas fendas de rochas, onde se protege e permanece nas horas mais quentes do dia (Vanzolini *et al.*, 1980). É um animal carnívoro, forrageador de espreita, que consome uma grande variedade de presas, predominantemente formigas (Vitt, 1995). Na medicina popular, *T. Semitaeniatus* é indicado para tratamento de Sarampo, asma, alcoolismo, dermatomicose, verrugas. (Alves *et al.*, 2009). Tanto *T. hispidus* quanto *T. semitaeniatus* são usados na medicina tradicional inteiros, na forma de chá (decoctos) (Ferreira *et al.*, 2009; Alves *et al.*, 2009; Alves & Rosa, 2007).



Figura 2. Lagartos do gênero *Tropidurus* usados na medicina tradicional no Brasil A: *Tropidurus hispidus*; B: *Tropidurus semitaeniatus*. fonte: WWW.flickr.com

ETNOFARMACOLOGIA ANIMAL

A Etnofarmacologia é uma divisão da Etnobiologia, devotada ao estudo do complexo conjunto de relações de plantas e animais com sociedades humanas, presentes ou passadas (Berlin, 1992). Define-se Etnofarmacologia como “a exploração científica interdisciplinar dos agentes biologicamente ativos, tradicionalmente empregados ou observados pelo homem” (Bruhn & Holmstedt, 1982). A etnofarmacologia permite a formulação de hipóteses quanto à(s) atividade(s) farmacológica(s) e à(s) substância(s) ativa(s) responsáveis pelas ações terapêuticas relatadas (Elisabetsky & Setzer, 1985; Elisabetsky, 1986; Nunes, 1996).

Nos últimos anos, trabalhos vêm sendo realizados objetivando demonstrar o potencial clínico-farmacológico de produtos naturais provenientes de animais. A produção de anti-venenos a partir do veneno extraído dos próprios agentes tóxicos (serpentes, escorpiões e aranhas), é um exemplo de utilização de animais na indústria farmacêutica. Serpentes do gênero *Bothrops* (Wagler, 1824) produzem uma peçonha rica em substâncias vasodilatadoras, isoladamente a Bradicinina (Loureiro-Silva *et al.*, 1999), que auxiliam no tratamento da hipertensão. O veneno da serpente *Bothrops jararaca* apresenta várias propriedades medicinais, como atividade antibactericida e antiparasitária (Ciscotto *et al.*, 2009). Morais *et al.*, (2009) relatam a atividade anti-coagulante de componentes do veneno de *Bothrops jararaca*. Liu *et al.*, (2008) demonstram o efeito anti-tumor de extratos do lagarto *Gecko japonicus* amplamente utilizado na medicina tradicional chinesa. As lisozimas das tartarugas *Trionyx sinensis*, *Amyda cartilaginea* e *Chelonia mydas* demonstraram uma alta atividade antibactericida (Thammasirirak *et al.*, 2006). Duas proteínas retiradas da ascídia *Branchiostoma belcheri* demonstraram atividade antibactericida (Fan *et al.*, 2008; Ju *et al.*, 2009).

Rinaldi (2002) relata a existência de proteínas com atividade antibactericida, antifúngica e antiviral em anfíbios, assim como proteínas e metabólitos secundários na secreção epidérmica de peixes demonstraram atividade contra bactérias (Subramanian *et al.*, 2008). Park *et al.*, (2009) isolou proteínas do tipo lactoforicina do leite de *Bos taurus* com atividade contra bactérias. Balamurugan *et al.* (2009) mostram que extratos provenientes do oligoqueto *Lampito mauritii* apresentam atividades anti-inflamatória e anti-pirética. Murari *et al.*, (2005) relatam o efeito redutor de extratos da pena de *Pavo cristatus* frente as inflamações causadas por mordida de serpentes. . Extratos obtidos dos tentáculos de *Hydra* sp. possuem uma alta atividade antibactericida (Bosch *et al.*, 2009). Guerrini *et al.*, (2009) caracteriza quimicamente o mel de abelhas determinando suas funções biológicas que são: atividade anti-oxidante, antibactericida e antimutagênica.

Em 2002, a OMS (2002) lançou um plano global para tornar o uso da medicina tradicional, mais segura, baseado em incentivar pesquisas sobre a segurança, eficácia e qualidade das práticas tradicionais.

A medicina tradicional, em geral, representam um campo ainda pouco explorado da pesquisa em termos de avaliação do potencial terapêutico ou clínico (De Smet, 1991), e pouca pesquisa tem sido feito até agora para provar a eficácia clínica de produtos animais para fins medicinais (Still, 2003), o que gera uma certa preocupação já que a perda da biodiversidade e o acelerado processo de mudança cultural acrescentam um senso de urgência no registro desse saber. A criação de instrumentos legais de direitos de propriedade intelectual para conhecimentos tradicionais é de fundamental importância (Elisabetsky, 1990; Cunningham, 1993).

Andrade e Costa-Neto (2005) relataram que embora os estudos sobre a utilização de animais como fontes de medicamentos ainda sejam embrionários, deve-se destacar a

importância ecológica desta prática. Vários autores alertam sobre a super-exploração dos recursos naturais devido o seu uso na medicina tradicional (Alves *et al.*, 2007) e também por indústrias farmacêuticas para a prospecção e produção de novas drogas (Hunt & Vicent, 2006; Harvey, 2008). O respeito ao meio ambiente e ao *modus vivendi* de comunidades tradicionais, é essencial ao desenvolvimento sustentável e à manutenção da sociobiodiversidade (Posey, 1983).

O uso indiscriminado de espécies para fins medicinais, sem a presença de dados consistentes que comprovem a eficácia destes produtos, possivelmente tem sido apontada como uma das possíveis causas de declínio de espécies animais e vegetais (Alves & Rosa, 2005, 2007). Do ponto de vista da saúde pública, Alves & Rosa (2005) e Hunt & Vincent (2006), comentam a necessidade de isolar e comprovar as propriedades farmacológicas dos zoterapicos devido ao perigo de transmissão de doenças e pela necessidade de otimização dos remédios a base de animais para justificar o seu uso na medicina tradicional (Alves, 2009).

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA E FARMACOLÓGICA DE PRODUTOS NATURAIS

Com o aumento da resistência microbiana aos antibióticos, o uso de produtos naturais representam uma alternativa interessante para o tratamento (Liu *et al.*, 2007; Mbwambo *et al.*, 2007). Muitos produtos têm sido avaliados não apenas para a atividade antimicrobiana direta, mas também como agentes moduladores de resistência (Gibbons, 2004; Coutinho, 2009).

De acordo com Benoit-Vical (2006) nos últimos anos, vários estudos têm sido realizados em diferentes países para demonstrar a eficácia de produtos naturais frente as

infecções bacterianas. Segundo Coutinho *et al.*, (2009), diversos compostos obtidos de produtos naturais, têm atividade direta contra muitas espécies de bactérias, aumentando a atividade ou revertendo a resistência natural de uma bactéria específica para determinados antibióticos.

Uma grande gama de produtos naturais de origem vegetal tem sido testadas na investigação de suas propriedades antimicrobianas e/ou farmacológicas. Coutinho *et al.*, (2009) avaliou a atividade antimicrobiana de *Turnera ulmifolia* L., frente a *Staphylococcus aureus*; o mesmo autor em outro trabalho avaliou a atividade moduladora de *Mentha arvensis* L. com aminoglicosídeos; Nostro *et al.*, (2004) investigou o óleo essencial do orégano na modulação da resistência de antibióticos; Matias *et al.*, (2010) testou a atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. Consideravelmente menos estudos têm sido feitos para avaliar o potencial microbiológico/farmacológico dos animais do que das plantas. De acordo com Harvey (2008), dos 225 produtos naturais que estão em algum estágio atual de desenvolvimento 108 são de produtos vegetais e apenas 24 dos animais.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

1. Avaliar a Atividade Microbiológica e Farmacológica de produtos naturais de *Tropidurus hispidus* (Spix, 1825) e *Tropidurus semitaeniatus* (Spix, 1825).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Realizar a prospecção química dos extratos obtidos a partir de pele de *Tropidurus hispidus* e decoctos de *Tropidurus hispidus* e *Tropidurus semitaeniatus*;
2. Determinar a Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos mais efetivos sobre as linhagens bacterianas patogênicas;
3. Verificar a eficácia dos extratos na modulação da resistência bacteriana à aminoglicosídeos;
4. Avaliar a atividade anti-inflamatória do Óleo de *Tropidurus hispidus* por via tópica (ação local) através do modelo de edema de orelha.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREA DE COLETA

O município de Crato (S 7° 14' e W 39° 24') está localizado ao sul do estado do Ceará. Tem uma área territorial de cerca de 1.009 Km² apresentando uma população de aproximadamente 111.198 habitantes (IBGE, 2009). A principal atividade econômica é comércio e turismo. Quanto aos serviços de saúde conta com seis hospitais e 20 postos de saúde (IPECE, 2005). Encontra-se localizado na Biorregião do Araripe. Esta região apresenta um mosaico de ecossistemas onde é possível encontrar matas úmidas (Floresta Subperenifólia Tropical Plúvio-Nebular), matas secas (Floresta Subcaducifólia Tropical Pluvial), cerrado (Floresta Subcaducifólia Tropical Xeromorfa), caatinga (Floresta Caducifólia Espinhosa), carrasco e cerrado (Figueiredo *et al.*, 1998; IPECE, 2005).

ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Toda a proposta da pesquisa está em conformidade com as normas e diretrizes bioéticas vigentes para ensaios envolvendo seres vivos: *Guide for the care and use of laboratory animals*, do NIH - National Institute of Health-EUA, 1996; Lei Federal N° 11.794/2008; Princípios Éticos da Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA; e Lei Federal N° 9605/1998) (Bazzano, 2006; Machado *et al.*, 2006; Brasil, 2006, 2008).

Este projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade de Fortaleza (UNIFOR), com parecer n° 009/2010, registro 10-022.

MATERIAL ZOOLOGICO

Os animais foram coletados no município de Crato (S 7° 14' e W 39° 24'), Ceará, Brasil, no mês de Abril de 2010, manualmente, com estilingues, e com pistola de pressão 4 mm, além de coletas ativas vasculhando ambientes onde estes animais podem ocorrer (Permissão de coleta: 154/2007 nº 23544-1 processo nº 17842812).

Uma vez coletados, os lagartos foram sacrificados por congelamento e secos em estufa de secagem para obtenção dos decoctos e extratos. Espécimes testemunho foram fixados em álcool 70% e depositados na coleção de Zoologia da Universidade Regional do Cariri/LZ-URCA. (Tabela 1)

Tabela1. Espécies utilizadas nas análises microbiológicas

Espécie	Universidade/Nº de Tombo
<i>Tropidurus hispidus</i>	Universidade Regional do Carri-URCA LZ-847
<i>Tropidurus semitaeniatus</i>	Universidade Regional do Carri-URCA LZ-926

Foram coletados 51 *T. hispidus* e 21 *T. semitaeniatus*. 26 lagartos *T. hispidus* foram separados e dissecados para retirada da pele e da banha. Da pele de *T. hispidus* foi preparado extrato metanólico e da banha foi extraído o Óleo Fixo. 24 foram utilizados inteiros para preparação do decocto. Os lagartos *T. semitaeniatus* foram usados na produção dos decoctos (20 animais inteiros).

MATERIAIS LABORATORIAIS UTILIZADOS

Drogas, reagentes e soluções

As substâncias utilizadas nos ensaios encontram-se relacionadas a seguir com suas respectivas procedências:

SUBSTÂNCIA	ORIGEM
Acetona P.A. (propan-2-ona)	Dinâmica, Brasil
Ácido acético P.A	Fluka, Alemanha
Ácido araquidônico	Sigma, USA
Capsaicina	Sigma, USA
Carragenina	Sigma, USA
Cloridrato de cetamina 10% (Cetamin®)	Syntec, Brasil
Dexametasona (Decadron®)	Ache, Brasil
Dimetilsulfóxido	Merck, Alemanha
Etanol P.A.	Dinâmica, Brasil
Fenol 99%	Sigma-Aldrich, USA
Histamina	Sigma, USA
Indometacina (Indocid®)	Merck Sharp & Dohme, Brasil
Óleo de cróton	Sigma, USA
Solução fisiológica NaCl 0,9%	FARMACE, Brasil
Tween 80	Sigma-Aldrich, USA
Metanol	Dinâmica, Brasil
Hexano	Dinâmica, Brasi
Brain Heart Infusion (BHI)	Merck, Alemanha

SUBSTÂNCIA (Cont.)	ORIGEM (Cont.)
Neomicina	Merck, Alemanha
Canamicina	Merck, Alemanha
Gentamicina	Merck, Alemanha
Amicacina	Merck, Alemanha
Resazurina	Sigma-Aldrich, USA
Ácido Clorídrico	Dinâmica, Brasil
Hidróxido de Sódio	Dinâmica, Brasil
Etanol 70%	Dinâmica, Brasil

Material permanente e equipamentos utilizados

- Balança analítica de precisão (Metler Toledo AB204)
- Banho-maria (Modelo 100, Fanem Ltda.)
- Cronômetros digitais (LivStar)
- Extrator de Soxhlet
- Materiais de biossegurança
- Material cirúrgico
- Paquímetro digital (Jomarca, Ref. Nº 205509)
- Perfurador de couro (circunferência de 6 mm Ø)
- Pipetas automáticas (Maxipette)
- Rotaevaporador (Fisatom)
- Seringas estéreis (1 mL, 3 mL e 5 mL)
- Autoclave de esterilização à vapor quente
- Estufa de secagem e esterilização

- Placas de microdiluição estéreis
- Tubos Eppendorffs
- Tubos Falcon
- Vidrarias gerais

PREPARO DO EXTRATO METANÓLICO DA PELE DE *TROPIDURUS HISPIDUS*

O extrato metanólico de *T. hispidus* foi obtido a partir da submersão das peles dos lagartos (que foram picotadas para aumentar sua superfície de contato) por 72h em metanol (extrato a frio), sendo após isso, filtrado e concentrado em evaporador rotativo (Soxhlet) (model Q-344B – Quimis, Brasil), sendo finalizado em banho-maria a 70°C por 2h (model Q-214M2 – Quimis, Brasil), obtendo-se rendimento do extrato bruto apresentado na Tabela 2. O extrato foi então armazenado em freezer para análises futuras.

PREPARO DOS DECOCTOS DE *T. HISPIDUS* E *T. SEMITAENIATUS*

Como dito anteriormente, na prática zoterapica popular os lagartos *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* são usados inteiros na forma de chá (decoctos) (Ferreira *et al.*, 2009; Alves, 2009; Alves & Rosa, 2006), e para estudá-los da forma mais aproximada de seu uso na medicina popular, foram preparados os decoctos dessas espécies a fim de avaliar suas atividades biológicas.

Os decoctos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* foram obtidos a partir da submersão dos lagartos inteiros, já secos em estufa de secagem por 2h em água

destilada a 100°C, sendo após esse período, filtrado e congelado. O material congelado foi concentrado em liofilizador (Modelo Liobras – L101) e armazenado para uso nos ensaios antimicrobianos. Os rendimentos dos decoctos são apresentados na Tabela 2. Os decoctos foram então armazenados em freezer para análises futuras.

EXTRAÇÃO DO OLÉO FIXO DA BANHA DE *T. HISPIDUS*

O óleo fixo foi extraído da banha que se concentrava na região ventral. A extração foi feita em aparelho de Soxhlet utilizando como solvente o hexano durante um período de 4 horas. Em seguida o óleo foi secado em banho Maria a 70 °C por um período de 2 horas sendo em seguida acondicionado e mantido sob refrigeração em freezer para futuras análises.

PROSPECÇÃO QUÍMICA

Os testes químicos para detectar a presença de heterosídeos, saponinas, taninos, flavonóides, esteróides, triterpenos, cumarinas, quinonas, ácidos orgânicos e de alcalóides foram realizados seguindo o método descrito por Matos (1997). Os testes se baseiam na observação visual da alteração de cor ou formação de precipitado após a adição de reagentes específicos. Os resultados obtidos podem ser verificados na tabela 3.

TESTE MICROBIOLÓGICO: PREPARO DAS SOLUÇÕES A PARTIR DO EXTRATO E DOS DECOCTOS

Preparo da solução inicial e das soluções de teste.

No preparo da solução inicial as amostras do extrato e dos decoctos foram solubilizadas em Dimetilsulfóxido (DMSO- Merck, Darmstadt, Alemanha), observando as seguintes proporções: 10mg da amostra solubilizados em 1mL de Dimetilsulfóxido DMSO, para obter uma concentração inicial de 10mg/mL. Em seguida, esta solução foi diluída para 1024µg/mL da mesma forma e a partir desta, efetuaram-se diluições seriadas 1:2 em água destilada, obtendo-se as concentrações de 512 a 1 µg/mL.

Microorganismos

Os microrganismos que foram utilizados nos testes foram obtidos através do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz, Ministério da Saúde.

Os experimentos foram realizados com isolados clínicos de *Escherichia coli* (EC27), resistente à neomicina e gentamicina (nível baixo) e tobramicina, amicacina e canamicina, assim como sua linhagem padrão ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* 358 (SA358), resistente a diversos aminoglicosídeos (Apêndice 7) (Freitas *et al.*, 1999;. Coutinho *et al.*, 2005) e sua linhagem padrão ATCC 25923, *Pseudomonas aureuginosa* PA RB1 multirresistente e padrão ATCC 15692. Todas as cepas foram mantidas em Agar Heart Infusion (HIA, Difco) inclinado, e antes do ensaio foram cultivadas durante a noite a 37 ° C em Brain Heart Infusion (BHI, Difco).

Meios de cultura

Foram utilizados nos ensaios biológicos os seguintes meios de cultura: Agar Heart Infusion - HIA (Difco Laboratories Ltda.), Caldo Brain Heart Infusion – BHI (concentração indicada pelo fabricante e 10%) (Acumedia Manufacturers Inc.). Todos os meios de cultura foram preparados segundo as especificações do fabricante.

Preparo e padronização de inóculos bacterianos

Culturas de bactérias ficaram mantidas a 4°C em HIA. Antes dos testes, as linhagens foram repassadas para o meio citado e incubadas a 35°C por 24 horas. As linhagens repicadas usadas nos testes foram inoculadas em Caldo BHI e incubadas na mesma situação antes do teste. Suspensões com crescimento bacteriano foram diluídas até a obtenção de 10^5 céls/mL (NCCLS, 2000b).

Drogas

As drogas utilizadas gentamicina, canamicina, ampicilina, neomicina foram obtidos da Sigma Chemical Corp, St. Louis, MO, EUA. Todas as drogas foram dissolvidos em água estéril antes do uso.

Avaliação Antimicrobiana: Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Os ensaios para determinação da CIM do extrato metanólico da pele de *T. hispidus* e dos decoctos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* foram efetuados através do Método de Microdiluição em Caldo, com concentrações variando de 512 a 8 µg/mL.

CIM pelo Método de Microdiluição em Caldo: Execução e Leitura dos Ensaios

Este método utiliza pequenos volumes de meio e de amostra, distribuídos em cavidades de microplacas estéreis. Das na concentração de 1024 µg/mL, volumes de 100 µL foram diluídas seriadamente 1:2 em caldo BHI 10%. A última cavidade foi usada como grupo controle. As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas (Javadpour *et al.*, 1996).

Para evidenciar a CIM das amostras, foi preparada uma solução indicadora de resazurina sódica (Sigma) em água destilada estéril na concentração de 0,01% (p/v). Após a incubação, 20 µL da solução indicadora foram adicionados em cada cavidade e as placas passaram por um período de incubação de 1 hora em temperatura ambiente. A mudança de coloração azul para rosa devido à redução do pH da Resazurina indicou o crescimento bacteriano (Markhan, 1998; Palomino *et al.*, 2002), auxiliando a visualização da CIM, definida como a menor concentração capaz de inibir o crescimento microbiano, evidenciado pela cor azul inalterada.

Avaliação da interferência dos extratos sobre a resistência aos antibióticos aminoglicosídeos: Execução e Leitura do Ensaio

Para avaliar os extratos como moduladores da ação antibiótica, a CIM de antibióticos da classe dos aminoglicosídeos (canamicina, amicacina, neomicina e gentamicina) foram avaliados na presença e na ausência de todas as amostras (extrato metanólico de *T. hispidus*; decoctos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus*; óleo fixo de *T. hispidus*) em microplacas estéreis. Todos os antibióticos testados foram obtidas junto a Sigma.

As amostras foram misturadas em caldo BHI 10% em concentrações subinibitórias (MIC/8). A preparação das soluções de antibióticos foi realizada com a adição de água destilada estéril em concentração dobrada (2500 µg/mL) em relação à concentração inicial definida e volumes de 100 µL diluídas seriadamente 1:2 em caldo BHI 10%. Em cada cavidade com 100 µL do meio de cultura continha a suspensão bacteriana diluída (1:10). Os mesmos controles utilizados na avaliação da CIM para as amostras foram utilizados (Sato *et al.*, 2004, modificado). As placas preenchidas foram incubadas a 35°C por 24 horas e a leitura evidenciada pelo uso de Resazurina sódica como citado anteriormente.

TESTE FARMACOLÓGICO: AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTINFLAMATÓRIO DO ÓLEO DE *T. HISPIDUS* (OTH)

Neste ensaio foi avaliado a atividade antinflamatória do óleo de *T. hispidus* pelo modelo de edema de orelha em camundongos. Este modelo é amplamente utilizado para demonstrar a atividade tópica de substâncias bioativas em inflamações cutâneas (Blazsó

& Gábor, 1995; Gábor, 2000). A aplicação de diferentes agentes flogísticos (óleo de cróton, ácido araquidônico, capsaicina, fenol, histamina) se justificada pelos seus mecanismos específicos, já conhecidos, na indução do processo inflamatório, cujos resultados obtidos podem sugerir um provável mecanismo da ação anti-inflamatória da substância em estudo.

*OTH (Óleo de *Tropidurus hispidus*)*

Para realização do teste farmacológico de edema de orelha, foi usado apenas o Óleo de *T. hispidus* na concentração mais efetiva. Para determinar a concentração mais efetiva realizou-se um teste piloto com as concentrações de 200 mg/mL, 400mg/mL e o OTH bruto.

Animais

Os animais utilizados nos ensaios *in vivo* para avaliação da atividade anti-inflamatório pelo modelo de edema de orelha foram camundongos *Swiss* da espécie *Mus musculus*, cuja massa corpórea variou entre 20-30g aproximadamente, de ambos os sexos, aclimatizados em temperatura media de 22°C (\pm 3°C), mantidos em ciclos claro/escuro de 12 horas cada, com ração e água *ad libitum*. Os animais foram cedidos pelo Biotério da Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ) e pela Faculdade Leão Sampaio (FLS) e monitorados no Biotério Experimental da Universidade regional do Cariri-URCA, em conformidade com as normas e procedimentos de biossegurança para biotérios (Cardoso, 1998; 2001) e bioéticas (Bazzano, 2006).

Edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

Lapa,(2003) descreve o óleo de cróton é um agente flogístico que possui como constituintes químicos ésteres de forbol, sendo o TPA (ácido 13-acetato de 12-o-tetracanoilforbol) o agente com potencial irritante. Vários mediadores da inflamação são estimulados pela sua aplicação ocorrendo liberação de aminas vasoativas e de derivados do ácido araquidônico. Para avaliar a atividade tópica por tratamento agudo do OTH neste modelo, grupos de $n = 7$ camundongos *Swiss* tiveram suas orelhas direitas tratadas, topicamente, com 20 μL de Acetona, indometacina 100 mg/mL (2 mg/orelha), dexametasona 4 mg/mL (0,08 mg/orelha), OTH em Acetona nas concentrações de 100, 200 e 400 mg/mL (1, 2, 4 e 8 mg/orelha, respectivamente) ou OTH bruto (20 μL = 13 mg de OTH), esperando 15 minutos para absorção. Em seguida, 20 μL de óleo de croton 5% (v/v) em acetona foi aplicado topicamente na orelha direita e 20 μL do veículo acetona na orelha esquerda. Após 6 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e discos de 6 mm de diâmetro foram obtidos das orelhas através de um *punch* (perfurador de couro metálico) para avaliação do edema (Tubaró, 1985).

Edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton

No intuito de avaliar o efeito anti-inflamatório do OTH em um processo inflamatório crônico, já estabelecido, foi utilizado um modelo com a aplicação múltipla do óleo de cróton. O processo inflamatório crônico foi induzido pela aplicação de 20 μL de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona em dias alternados, durante 9 dias, em camundongos *Swiss* ($n = 6$ /grupo). O OTH (13 mg/orelha) e a dexametasona (0,1 mg/orelha, controle positivo) foram aplicados por via tópica durante 4 dias (2 vezes ao

dia) 96 horas após a primeira aplicação de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona após o quinto dia do experimento, sendo o edema avaliado diariamente. No 9º dia do experimento, os animais foram sacrificados para obtenção de círculos de 6 mm de tecido das orelhas, coletados para avaliação do edema segundo o método descrito por Stanley *et al.*, (1991).

Edema de orelha induzido por ácido araquidônico

Para avaliar a atividade tópica do OTH neste modelo, as orelhas direitas de camundongos Swiss (n = 7 / grupo) foram tratadas, topicamente, com 20 µL de solução salina (controle negativo); indometacina 100 mg/mL, dexametasona 4 mg/mL (controles positivos) ou OTH bruto, esperando 15 minutos para absorção. Em seguida, 20 µL de ácido araquidônico 0,1 mg/µL diluído em acetona foi aplicado na orelha direita e 20 µL do veículo acetona aplicado na orelha esquerda. Após 1 hora, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas para avaliação do edema, (Young *et al.*, 1984; Crummey *et al.*, 1987).

Edema de orelha induzido por capsaicina

Na avaliação da atividade tópica do OTH nesse modelo, as orelhas direitas de camundongos Swiss (n = 7 / grupo) foram tratadas, topicamente, com 20 µL de salina, dexametasona 4 mg/mL ou OTH bruto, esperando 15 minutos para absorção. Em seguida, 20 µL de capsaicina 0,01 mg/µL diluído em acetona foi aplicado na orelha direita e 20 µL do veículo acetona aplicado na orelha esquerda. Após 30 minutos (pico máximo de formação de edema), os animais foram sacrificados por deslocamento

cervical e discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas para avaliação do edema (Gábor & Razga, 1992).

Edema de orelha induzido pela injeção subcutânea de histamina

Inicialmente os animais (n = 7/grupo) foram anestesiados com cloridrato de cetamina 10 mg/kg, e cloridrato de xilazina 10 mg/kg. Em seguida, os animais foram pré-tratados topicamente com 20 µL de salina, dexametasona 4 mg/mL (0,08 mg/orelha) ou OTH bruto (13 mg/orelha). Após 30 minutos, foi administrado 5 µL de solução de histamina (100 mg/mL de salina), subcutânea, na região ventral da orelha direita dos camundongos com o auxílio de uma agulha hipodérmica 29 G, e na orelha esquerda o mesmo volume de salina, também intradermicamente (Sham). Após 2 horas, os animais foram sacrificados por deslocamento cervical e tiveram discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas para avaliação do edema segundo método descrito por Gábor & Razga, 1992.

Edema de orelha induzido por fenol

Nesse estudo, as orelhas direitas de camundongos Swiss (n = 7 / grupo) foram pré-tratadas, topicamente, com 20 µL de com solução salina, dexametasona 4 mg/mL ou OTH bruto, e espera de 15 minutos para absorção. Em seguida, 20 µL de fenol 10% (v/v) diluído em acetona foi aplicado na orelha direita e 20 µL do veículo acetona aplicado na orelha esquerda. Após 1 hora, os animais foram sacrificados por

deslocamento cervical e discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas para análise do edema, segundo Gábor, (2000).

Quantificação do edema e do efeito inibitório médio

Objetivando avaliar o percentual de inflamação em cada animal analisado, foram obtidos discos de 6 mm de diâmetro: um da orelha direita (tratada com agente flogístico) e outro da orelha esquerda (tratada com veículo). Em seguida, cada disco obtido teve sua massa determinada com a utilização de balança analítica (Metler Toledo AB204). O edema de orelha foi calculado pela diferença entre a massa do disco obtido da orelha esquerda (afetada pelo edema) e a massa do disco obtido da orelha direita dividido pelo número de animais do grupo para a obtenção da média do edema. Já o cálculo do efeito inibitório médio da inflamação (**EIM**, em %) de cada tratamento, seguiu-se aplicando a seguinte fórmula:

$$EIM (\%) = \left(\frac{MPE_{cont} - MPE_{trat}}{MPE_{cont}} \right) \times 100$$

onde **MPE_{trat}** é a média do percentual de edema do grupo submetido a tratamento com OTH ou fármaco padrão e **MPE_{cont}** é a média do percentual de edema do grupo controle negativo (tratado com salina).

ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os valores obtidos foram expressos em média \pm erro-padrão (E.P.M.). Os testes que possuem três ou mais grupos e uma única avaliação das amostras, as diferenças obtidas entre os grupos foram submetidas à análise de variância (ANOVA) de uma via,

seguinte-se do teste de Student-Newmann-Keuls. Para os ensaios que possuem três ou mais grupos e cuja avaliação das amostras se deu em vários intervalos de tempo (edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton), as diferenças entre os grupos foram submetidas à ANOVA de duas vias, seguindo-se do teste de Bonferroni, considerando diferenças significativas valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

RENDIMENTOS DAS AMOSTRAS

A tabela 2 mostra o rendimento obtido na preparação das amostras (extrato metanólico de *T. hispidus*; decoctos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus*; e óleo fixo de *T. hispidus*).

Tabela 2. Peso fresco, Peso seco e rendimento dos extratos metanólicos, decoctos e óleo de *Tropidurus hispidus* e *Tropidurus semitaeniatus* (g).

Espécie	Peso fresco	Peso seco	Solvente	Extrato bruto Rendimento
<i>Tropidurus hispidus</i>				
Pele	89,14	44,5275	Metanol (EMTH)	1,9672
Banha	33,66	-	Hexano (OTH)	8,4107
Animal inteiro	193,5	52,00	Água destilada (DTH)	11,0539
<i>Tropidurus semitaeniatus</i>				
Animal inteiro	94,68	27,7067	Água destilada (DTS)	4,4885

EMTH-Extrato Metanólico de *Tropidurus hispidus*; OTH-Oleo de *Tropidurus hispidus*;
DTH-Decocto de *Tropidurus hispidus*; DTS-Decocto de *tropidurus semitaeniatus*.

ANALISE DA PROSPECÇÃO QUÍMICA DO EXTRATO METANOLICO E DECOCTO DE *T. HISPIDUS* E DECOCTO DE *T. SEMITAENIATUS*

Os resultados da prospecção química revelaram a presença de Alcaloides em todas as amostras com exceção do Decocto de *T. hispidus* (Tabela 3).

Tabela 3. Resultado da prospecção química do extrato e decocto de *Tropidurus hispidus* e decocto *Tropidurus semitaeniatus*.

Classe de Metabolito Secundário	EMTH	DTH	DTS
Fenois	-	-	-
Taninos Pirogálicos	-	-	-
Taninos flobatênicos	-	-	-
Antocianinas	-	-	-
Antocianidinas	-	-	-
Flavonas	-	-	-
Flavonois	-	-	-
Xantonas	-	-	-
Chalconas	-	-	-
Auronas	-	-	-
Flavononois	-	-	-
Leucoantocianidinas	-	-	-
Catequinas	-	-	-
Flavononas	-	-	-
Terpenos	-	-	-
Alcaloides	+	-	+

EMTH - Extrato Metanolico de *Tropidurus hispidus*; DTH - Decocto de *T. hispidus*; DTS - Decocto de *T. semitaeniatus*. (+) presença, (-) ausência.

Este é o primeiro registro da presença de alcaloides em lagartos, sendo este fato já observados em anfíbios que adquirem os alcaloides dos insetos que ingerem, como o

sapo da espécie *Dendrobates pumilio* (Schmidt, 1857) (Saporito *et al.*, 2010). Em outro estudo foram identificados alcaloides em 25 espécies de rãs do gênero *Ameerega*, sendo esses alcaloides obtidos da ingestão de formigas (Daly *et al.*, 2009). A busca por compostos bioativos em animais surge como uma fonte alternativa de novas drogas. Os anfíbios se mostram como principais fornecedores de metabolitos como alcaloides e isso desde tempos antigos. Os chineses administravam a pele e as secreções de glândulas parótidas de sapos para regular funções corporais internas e a fertilidade ou como uma panaceia contramordida de cachorro raivoso (Costa-Neto & Alves 2010). Lazarus & Attila (1993) dizem que pesquisas laboratoriais demonstraram que sapos e rãs fornecem compostos com ação terapêutica, como a magainina (antibiótico). Peptídeos extraídos de secreções de rãs da espécie *Phyllomedusa bicolor*, já estão sendo usadas no tratamento da depressão, derrame e perda cognitiva em doenças degenerativas como o mal de Alzheimer (Amato, 1992). O registro de alcaloides verificados em espécies de répteis como *Tropidurus hispidus* e *semitaeniatus* vem somar nessa busca de novas fontes de substâncias bioativas e levantar a curiosidade na busca desses compostos em outras espécies de répteis.

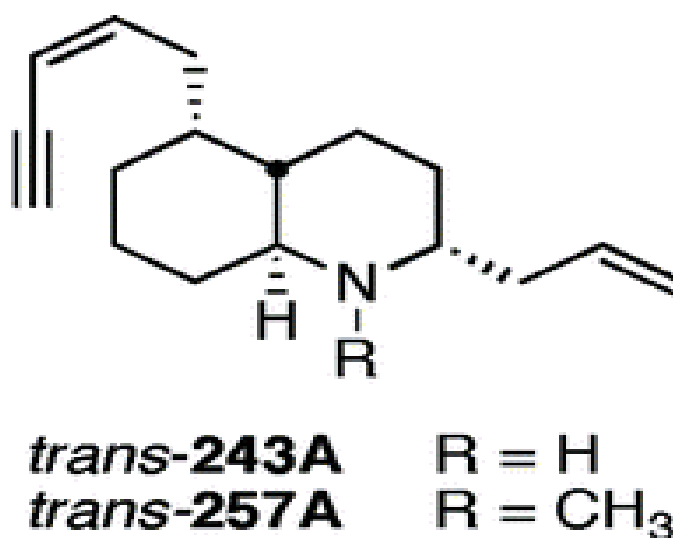


Figura 3. Estrutura de Alcaloide encontrado em pele de anfíbios (Daly *et al.*, 2009).

Os lagartos estudados do gênero *Tropidurus* apresentam uma alimentação básica de insetos com uma tendência para a especialização de formigas em espécies arbóreas (Vitt & Zani, 1996).

Os alcalóides são por definição compostos que contêm Nitrogênio mas que não são péptidos nem nucleósidos. São o grupo de metabolitos secundários onde existe maior diversidade estrutural sendo conhecidos mais de 5000 compostos, a maior parte deles provenientes de plantas, embora também tenham sido encontrados alcalóides em fungos e em animais, incluindo os mamíferos (Pelletier, 1982). Existe um grande interesse no estudo dos alcaloides devido suas múltiplas atividades biológicas, dentre elas a farmacológica e antimicrobiana (Bruneton, 1999).

A utilização dos lagartos *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* na medicina tradicional (Alves & Rosa, 2007; Alves *et al.*, 2007; Barbosa *et al.*, 2007; Costa-Neto, 2000; Freire, 1996; Marques, 1995), pode ser um indicativo de sua bioatividade e a identificação de alcaloides em extratos desses lagartos pode confirmar tal hipótese. Como esses lagartos são amplamente distribuídos (Rodrigues, 1987), e encontrados em grande número, mesmo em áreas antropizadas, pode-se imaginar um possível mecanismo de sobrevivência a partir da deposição de alcaloides acumulados por eles, como ocorre com anfíbios que acumulam alcaloides em sua pele como mecanismo de defesa.

ATIVIDADES ANTIMICROBIANA E MODULADORA DE ANTIBIOTICOS DO EXTRATO, DECOCTO E OLEO DE *T. HISPIDUS* E DECOCTO DE *T. SEMITAENIATUS*.

Os resultados mostraram que os extratos metanolicos da pele *T. hispidus* assim como o decocto e óleo da mesma especie e de *T. semitaeniatus* não apresentaram

atividade antibacteriana relevante do ponto de vista clínico, tendo sido obtido um CIM ≥ 1024 para todas as cepas bacterianas testadas sugerindo, portanto uma ineficiência do uso medicinal dos lagartos contra infecções bacterianas. Foi então investigado se DTH e DTS assim como o EMTH e OTH possuíam atividade bacteriana em sinergismo com antibióticos de uso comum.

Na linhagem SA358, o DTS em associação com a canamicina e amicacina reduziu a CIM destes antibióticos significativamente como observado na tabela 4. O DTH também modulou a ação do aminoglicosídeo canamicina. Já com a linhagem multirresistente *Pseudomonas aureuginosa* RB1, tanto o DTH quanto o DTS apresentaram sinergismo com os aminoglicosídeos Neomicina e Gentamicina (Tabela 4).

O extrato metanólico e o óleo de *T. hispidus* foram também associados aos mesmos aminoglicosídeos para análise de efeito modulador. Os resultados mostraram que o OTH não teve nenhuma interferência na ação dos aminoglicosídeos. Já o EMTH em associação com a gentamicina reduziu sua CIM de 39,06 para 9,76 frente a SA358.

Um efeito antagonico foi verificado com o EMTH que quando associado a Amicacina aumentou sua CIM de 39,06 para 156,25 frente a linhagem SA358 (Tabela 5).

Assim como no presente trabalho ficou evidenciado uma CIM não significativa do ponto de vista clínico com o extrato, decocto e óleo de *T. hispidus*, assim como o decocto de *T. semitaeniatus* todas ≥ 1024 , resultado semelhante foi encontrado em estudos realizados por Ferreira *et al.*, (2009) que demonstrou a ineficiência da banha de Teiú (*Tupinambis merianae*) como antimicrobiano, usada pela medicina popular, diante das infecções causadas por linhagens de bactérias como *E. coli* e *S. aureus*, obtendo um CIM também ≥ 1024 $\mu\text{g/mL}$.

Tabela 4. Valores da CIM ($\mu\text{g/ml}$) de aminoglicosídeos na presença de 128 $\mu\text{g/mL}$ dos Decoços de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* contra *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358 e *Pseudomonas aeruginosa* RB1.

	EC 27			SA 358			PA RB1		
	CIM	CIM combinado		CIM	CIM combinado		CIM	CIM combinado	
Antibióticos		DTH	DTS		DTH	DTS		DTH	DTS
Kanamicina	78,12	78,12	78,12	156,25	39,06	39,06	625	625	625
Amicacina	78,12	78,12	78,12	156,25	156,25	19,53	312,5	312,5	312,5
Neomicina	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12	78,12	625	78,12	156,25
Gentamicina	19,53	19,53	19,53	9,76	9,76	9,76	78,12	19,53	19,53

DTH - Decocto de *Tropidurus hispidus*; DTS - Decocto de *tropidurus semitaeniatus*.

Tabela 5. Valores da CIM ($\mu\text{g/ml}$) de aminoglicosídeos na presença de 128 $\mu\text{g/mL}$ de Extrato Metanoico da pele de *T. hispidus* e Óleo de *T. hispidus* contra *Escherichia coli* 27, *Staphylococcus aureus* 358 e *Pseudomonas aeruginosa* RB1.

	EC 27			SA 358			PA RB1		
	CIM	CIM combinado		CIM	CIM combinado		CIM	CIM combinado	
		EMTH	OTH		EMTH	OTH		EMTH	OTH
Antibióticos									
Kanamicina	156,25	156,25	156,25	625	625	625	1250	1250	1250
Amicacina	156,25	156,25	156,25	39,06	156,25	39,06	625	625	625
Neomicina	78,12	78,12	78,12	156,25	156,25	156,25	1250	1250	1250
Gentamicina	39,06	39,06	39,06	39,06	9,76	39,06	312,5	312,5	312,5

EMTH – Extrato Metanólico de *Tropidurus hispidus*; OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Ferreira *et al.*, (no prelo) , também avaliou a eficácia do óleo de *Boa constrictor* (Jibóia), como antimicrobiano frente as cepas *E. coli*, *S. aureus*, *P. aureuginosa* e *Proteus vulgaris*, demonstrando que não há bases farmacológicas para o uso desse produto zoterápico como um antibiótico (isoladamente) para o tratamento de doenças causadas por bactérias.

O uso popular tradicionalmente consolidado tem sido utilizado como guia para pesquisas farmacológicas (Elisabetsky, 1987; Babu *et al.*, 1997). Verificar se um produto natural apresenta, ou não, a atividade biológica atribuída, é bastante relevante em vários aspectos. O campo farmacológico vem buscando novas fontes de medicamentos, principalmente, os de efeito antibióticos (Hernández *et al.*, 2003, Silva-Santos *et al.*, 2004, Duarte *et al.*, 2005, Gayoso *et al.*, 2005; Michelin *et al.*, 2005; Lima *et al.*, 2006a, b; Santos *et al.*, 2007,; Silva *et al.*, 2007; Aguiar *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2008; Salvagnini *et al.*, 2008; Simões *et al.*, 2008), que devido o seu uso indiscriminado vem perdendo em muito seus efeitos medicinais (Georgopapadakou, 2002, Nostro *et al.*, 2004). Também a desmistificação de mitos e crenças em relação a muitos produtos naturais criados sobre as propriedades medicinais às vezes inexistente e que pode gerar em muitos casos, uma caça predatória indiscriminada à espécies ameaçadas de extinção (Costa-Neto, 2005; Begossi *et al.*, 1999; Hunt & Vincente, 2006) bem como o risco à saúde que o uso não apropriado de produtos naturais pode trazer (Alves & Rosa, 2005; Hunt & Vincente, 2006). Sabe-se que alguns produtos naturais (derivados de plantas, animais e minerais) usados na medicina tradicional podem causar sérios efeitos adversos (De Semet, 1991). Além disso, na maioria dos trabalhos sobre zooterapia, não é relatado efeitos adversos relacionado ao uso dos animais medicinais (Alves & Rosa, 2006). Por isso, há necessidade de estudos mais aprofundados acerca dos produtos

naturais de origem animal que representa um percentual de estudos diminuto em relação a fitoterapia (Harvey, 2008).

Contrapondo, um efeito sinérgico foi observado com os extratos testados em associação com determinado aminoglicosídeos, diminuindo a CIM dos antibióticos aminoglicosídeos frente as cepas bacterianas utilizadas (Tabela 4 e 5), o que também vem sendo verificado em outros estudos realizados com produtos naturais (Ferreira *et al.*, 2010; Coutinho *et al.*, 2009, 2010), gerando uma necessidade de se entender como as substâncias agem para aumentar o efeito antibacteriano dos antibióticos, já que a diminuição na concentração dos antibióticos em valores bastantes significativos se mostra relevantes nos estudos farmacológicos/microbiológicos.

O uso de extratos como agentes antimicrobianos, apresenta um baixo risco de aumento da resistência microbiana a sua ação, porque são misturas complexas, fazendo com que haja maiores dificuldades para adaptabilidade microbiana (Daferera *et al.*, 2003). Segundo Matias *et al.*, (2010) os mecanismos pelos quais os extratos podem inibir o desenvolvimento de microrganismos envolvem diferentes modos de ação, e em parte pode ser devido à característica hidrofóbica de alguns componentes. Vários componentes dos extratos podem atuar como permeabilizantes da membrana celular, aumentando penetração de antibióticos (Helander *et al.*, 1998). A presença de alcalóides encontrados nos extratos usados neste ensaio antimicrobiano pode ser um forte indício de que se deve a esta substância a atividade biológica constatada nos ensaios de modulação da resistência bacteriana, uma vez que esses extratos quando associados aos aminoglicosídeos reduziram significativamente a CIM destes (Tabela 4). Muitos estudos tem demonstrado a atividade farmacológica de alcalóides (Paulo *et al.*, 1992). Alcalóides com atividade antimicrobiana também foi evidenciado em extrato de pele de anfíbios (Santos *et al.*, 2009). No caso do DTH, em que não foi observada a presença de

alcaloides e ainda assim verificado sinergismo com determinados antibióticos, outra possível substância bioativa pode ser a causa do seu efeito sinérgico. Já em casos onde se observa antagonismo entre as substâncias testadas e os antibióticos, como visto no presente trabalho, compreender as causas que desencadeiam esse processo é de extrema importância, já que o uso combinado de antibióticos com outras substâncias pode acarretar efeitos negativos como o antagonismo também observado neste estudo. Segundo Granowitz & Brown (2008), o efeito antagonista devido ao uso combinado de antibióticos resulta provavelmente de uma quelação entre os mesmos. Provavelmente, isto pode ser um indicativo do efeito antagonista da interação entre EMTH com os aminoglicosídeos diminuindo a atividade dos antibióticos.

É importante notar que o uso de produtos naturais associados a drogas comercialmente disponíveis já foi relatado na literatura, mostrando o uso combinado de produtos naturais e fármacos industrializados no tratamento de diversas doenças (Shin *et al.*, 2007). Calvet-Min *et al.*, (2008) documentou o uso de produtos da medicina tradicional associados a medicina ocidental para tratamento de diarreia, vômito e dores de estômago. Vandebroek *et al.*, (2008), mostra o uso de produtos naturais e medicamentos industrializados para tratamento de doenças do trato respiratório e digestório. Ferreira *et al.*, (2009) demonstraram a existência de antagonismo entre o óleo extraído da banha de *Tupinambis merianae* e aminoglicosídeos.

A associação de produtos naturais a medicamentos pode ser algo muito benéfico com verificado neste estudo quando determinados antibióticos tiveram a CIM diminuída significativamente devido a interação com os extratos testados ou podem se caracterizar um risco à saúde quando não se conhece os seus efeitos, como se pode observar nos ensaios aqui registrados com EMTH, que quando associado a amicacina diminuiu significativamente a eficácia deste. Alves & Rosa (2007, 2010), que estudaram a

comercialização de animais medicinais no Norte e Nordeste do Brasil, ressaltam a necessidade de se considerar interação com medicamentos alopáticos (que possam estar sendo ingeridos pelo usuário do produto zoterápico) e seus possíveis efeitos negativos.

Alves (2010) relata que no Brasil a grande maioria de animais medicinais vem sendo consumida com pouca ou nenhuma comprovação de suas propriedades farmacológicas, propagadas por usuários ou comerciantes.

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIINFLAMATÓRIA DO ÓLEO DE *T. HISPIDUS*

A banha de animais é um dos zoterapicos mais utilizados. De acordo com Alves *et al.*, (2008a) as banhas de animais como *Caudisona durissa* (cascavel), *Gallus domesticus* (galinha), *Iguana iguana* (camaleão) e *Tupinambis marianae* (teiú), são usadas intensivamente na prática zoterapica. Isto pode ser devido ao fato dos animais usados para fins terapêuticos serem principalmente vertebrados com significante quantidade de tecido conjuntivo onde é obtido a maior quantidade de medicamentos (Alves & Rosa, 2006, 2007 a, 2007b, 2007c; Costa-Neto, 2005). No caso de *T. hispidus*, mesmo sendo um lagarto de pequeno a médio porte, por serem forrageadores sedentários e oportunistas (Vitt, 1995; Rodrigues, 1987, 1988; Vitt,1991; Bergallo & Rocha, 1993; Vitt *et al.*, 1997; Diazuriarte,1999), apresentam um certa quantidade de banha na sua região ventral, e devido a presença significativa de banha de repteis sendo usadas na pratica zoterápica, embora não haja nenhuma referencia do uso da banha de *T. hispidus* na documentação científica, foi avaliada sua eficácia clinica farmacológica contra inflamações tópica, uma vez que o uso medicinal desse animal também está

relacionado a doenças de caráter inflamatório, como dores de garganta, amigdalites e faringites (Costa-Neto, 2000).

Efeito do tratamento tópico do OTH nos modelos de inflamação cutânea

O óleo de *T. hispidus* (OTH) apresentou significativa atividade anti-inflamatória, reduzindo a inflamação do edema de orelha de camundongos causada por Óleo de Cróton (em dose única e múltipla aplicação), Fenol e Ácido Araquidônico. No modelo de edema de orelha causado por Capsaicina, OTH não apresentou redução significativa do edema quando comparado ao grupo controle negativo tratado com solução salina. Estes testes com a avaliação do potencial anti-inflamatório do óleo de *T. hispidus* indicam que o uso tradicional desta espécie em doenças de caráter inflamatório tem embasamento farmacológico, sendo este o primeiro registro envolvendo avaliação do potencial clínico-farmacológico em modelos *in vivo* de espécies deste gênero *Tropidurus*.

Avaliação do modelo de edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton

A aplicação única de óleo de cróton induziu um edema na orelha direita dos camundongos, de forma que o grupo controle apresentou significativo grau de edema em comparação com os que foram pré-tratados com OTH. O efeito antiinflamatório do óleo puro apresentou uma concentração significativa em comparação ao grupo controle ($p < 0,001$) Também na concentração de 100mg/mL, uma redução significativa também foi observada, porém em menor grau que o óleo puro ($p < 0,05$). Já nas concentrações de

200mg/mL e 400mg/mL não foi observado diferença significativa entre eles, ($p > 0,05$), sendo o óleo bruto a que representou melhor grau de efeito redutor do edema. (Figura 4 e Apêndice 1)

A média de inflamação na aplicação única de óleo de cróton em relação ao controle negativo foi de $11,2 \pm 0,39$ mg, enquanto o grupo tratado com a Dexametasona 4mg/mL apresentou redução do edema em $1,43 \pm 0,46$ ($P < 0,001$), com um percentual de inibição de 87,5%. O grupo tratado com OTH puro teve uma media de redução do edema de $5,71 \pm 0,68$ ($P < 0,001$), com 49,1% de percentual de inibição, o que representa uma redução significativa do OTH puro em relação ao controle negativo. Já nas concentrações de 100, 200 e 400 mg/mL do OTH as medias de redução do edema foram de $8,37 \pm 0,71$ (inibição de 25%; $P < 0,05$), $11,0 \pm 0,73$ (inibição de 1,78%) e $9,51 \pm 0,74$ (percentual de inibição de 15%) respectivamente, sendo portando o OTH puro a dose mais significativa nos experimentos anti-inflamatório.

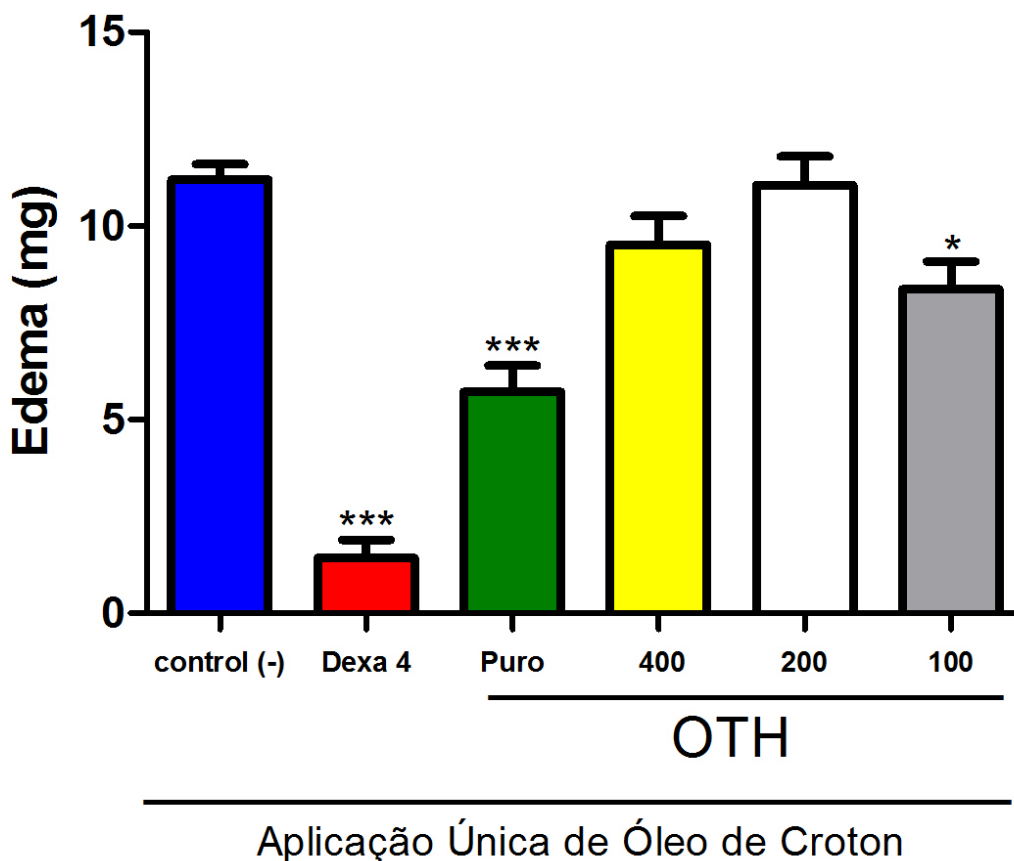


Figura 4. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação única de óleo de cróton (OC) em camundongos *Swiss*. Os animais foram pré-tratados com salina em Acetona, dexametasona, OTH em Acetona nas doses 100, 200 e 400 mg/orelha e OTH bruto e após 15 minutos, receberam topicamente solução de óleo de cróton 5% (v/v) em acetona. O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 6 horas de aplicação do óleo de cróton. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (* $P < 0,05$ e *** $P < 0,001$ comparadas ao controle negativo; $P < 0,01$ comparados ao grupo tratado com dexametasona. Análise estatística: ANOVA de uma via seguido do teste de Student-Newmann-Keuls).

Avaliação do modelo de edema de orelha induzida por aplicação múltipla de óleo de cróton

No modelo inflamatório crônico pela aplicação múltipla de óleo de cróton o OTH e a dexametasona foram aplicados por duas vezes ao dia durante quatro dias

(Figura 5 setas), demonstrando uma significativa redução em relação ao controle negativo. O controle negativo apresentou um edema de $11,6 \pm 1,9$ mg. A dexametasona e o OTH demonstraram diminuição significativa de $4,21 \pm 0,40$ mg ($P < 0,01$) e $4,21 \pm 0,94$ mg ($P < 0,001$) respectivamente, ambos com um percentual de inibição de 63,7 % . (Figura 5 e 6 e Apêndice 2)

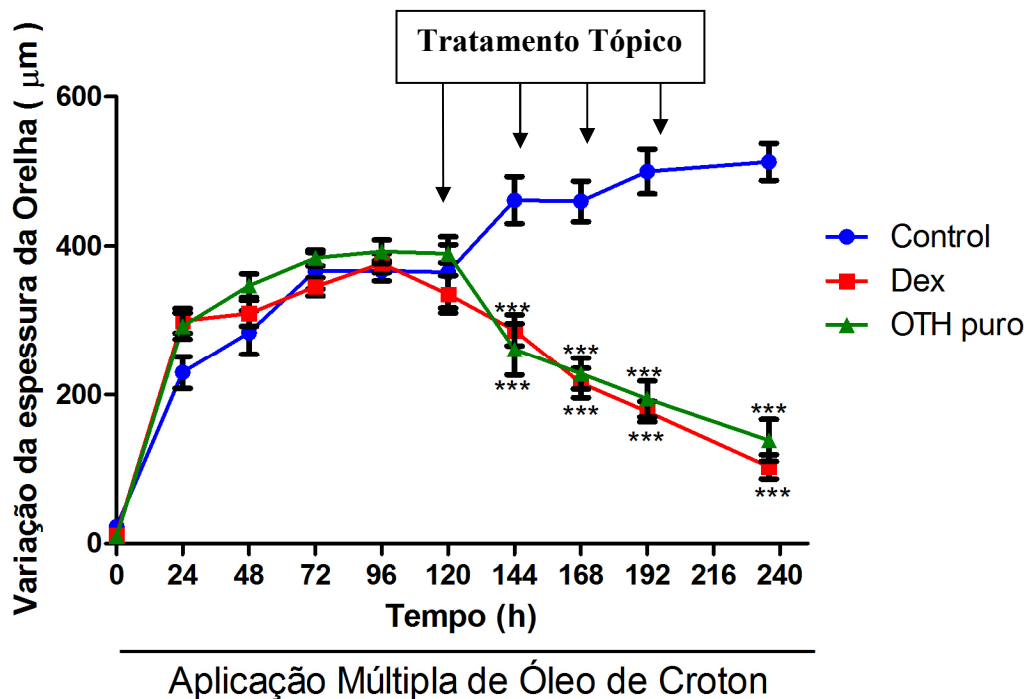


Figura 5. Curva tempo-resposta do efeito do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de Óleo de Croton (OC) em camundongos *Swiss*. O experimento foi conduzido em 9 dias. Os animais receberam OC em acetona na orelha direita em dias alternados e veículo acetona na orelha esquerda. A espessura da orelha desafiada com o agente flogístico foi mensurada com paquímetro digital antes da aplicação do OC, quatro horas após a primeira aplicação do OC (fase aguda) e nos tempos 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 e 192 horas após a primeira aplicação do OC. No 5º dia do experimento (96 horas após a primeira aplicação de OC), a orelha dos animais recebeu veículo salina (controle negativo), dexametasona ou OTH bruto (20 μL , 2 vezes ao dia), prosseguindo o tratamento durante os 4 dias posteriores (setas apontam os dias em que houve tratamento). O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através da variação da espessura da orelha, calculado pela diferença entre a espessura final e a inicial. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ comparadas ao controle negativo, ANOVA de duas vias seguido do Teste de Bonferroni).

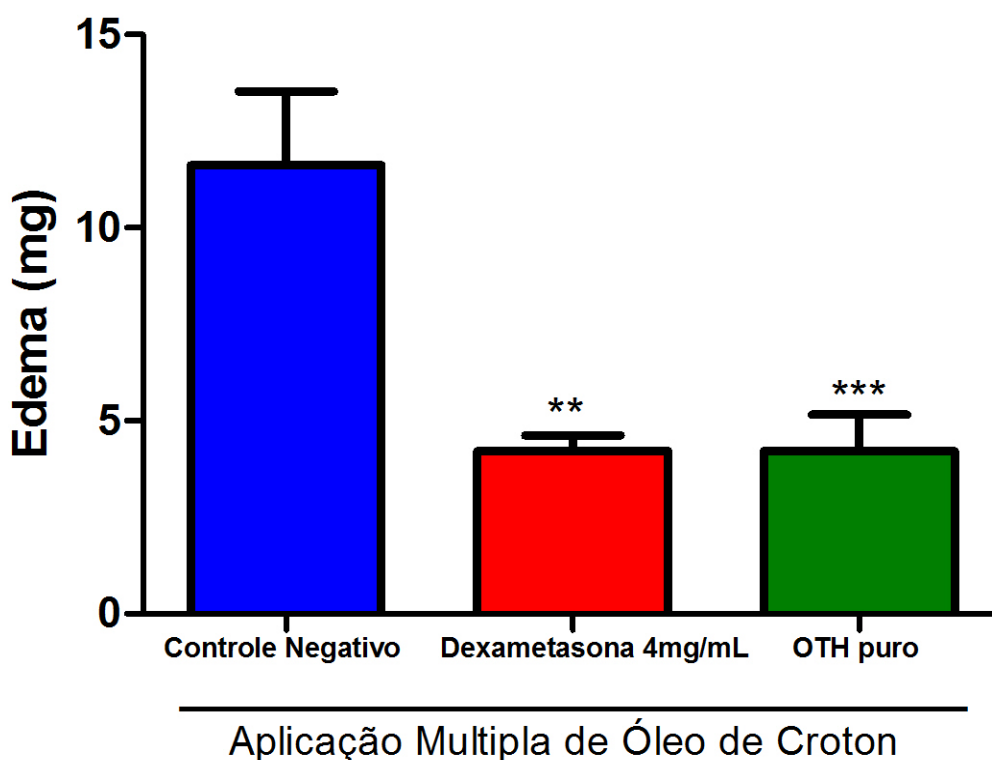


Figura 6. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton (OC) em camundongos *Swiss*. A aplicação de OC foi conduzida em dias alternados, durante 9 dias. No 5º, 6º, 7º e 8º dias do experimento, a orelha dos animais recebeu salina (controle negativo), dexametasona ou OTH bruto (20 µL, 2 vezes ao dia). O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do percentual de edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 192 horas da primeira aplicação do OC. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$ comparadas ao controle negativo. Análise estatística: ANOVA de uma via seguida do teste de Student-Newmann-Keuls).

Avaliação do modelo edema de orelha induzido por Ácido Araquidônico (AA)

No modelo de edema induzido por AA OTH também demonstrou relevante redução do edema com $3,13 \pm 0,20$ mg ($P < 0,001$), assim como a Indometacina com $2,48 \pm 0,47$ mg ($P < 0,001$) em relação ao controle negativo com um peso de edema de

5,71 ± 0,26 mg. O percentual de inibição para OTH e Indometacina foi de 45,6% e 57% respectivamente. (Figura 7 e Apêndice 3)

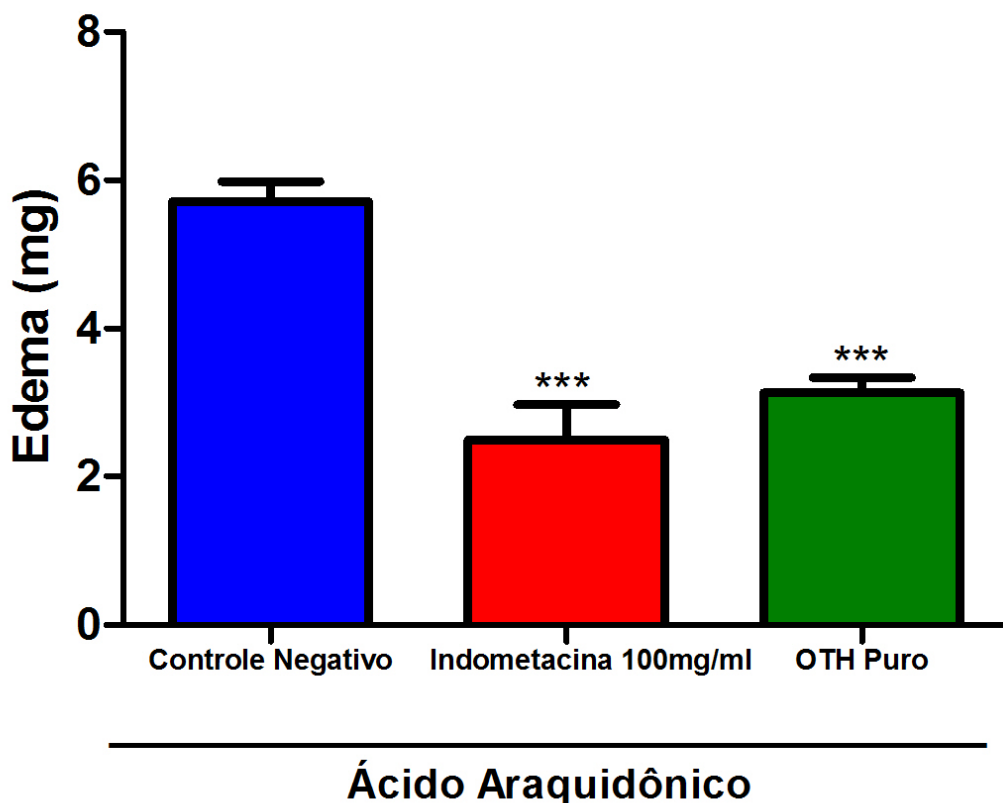


Figura 7. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por ácido araquidônico (AA) em camundongos *Swiss*. Os animais foram previamente pré-tratados com salina, indometacina, dexametasona e OTH puro (20µL/orelha). Após 15 minutos, receberam topicamente ácido araquidônico 0,1 µg/mL em acetona. O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do percentual de edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 1 hora de aplicação do AA. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo (C) e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$ comparadas ao controle negativo; # $P < 0,01$ comparadas ao grupo tratado com indometacina. Análise estatística: ANOVA de uma via seguido do teste de Student-Newmann-Keuls).

Avaliação do modelo de edema de orelha induzido por fenol

Em relação ao edema de orelha induzido por fenol, o grau do edema do controle negativo foi de $9,70 \pm 0,96$ mg, enquanto o grupo tratado com dexametasona e OTH foram ambos de $6,0 \pm 0,56$ mg (inibição de 38,1%) sendo o desvio padrão para a dexametasona $P < 0,05$ e para o OTH $P < 0,01$. (Figura 8 e Apêndice 4)

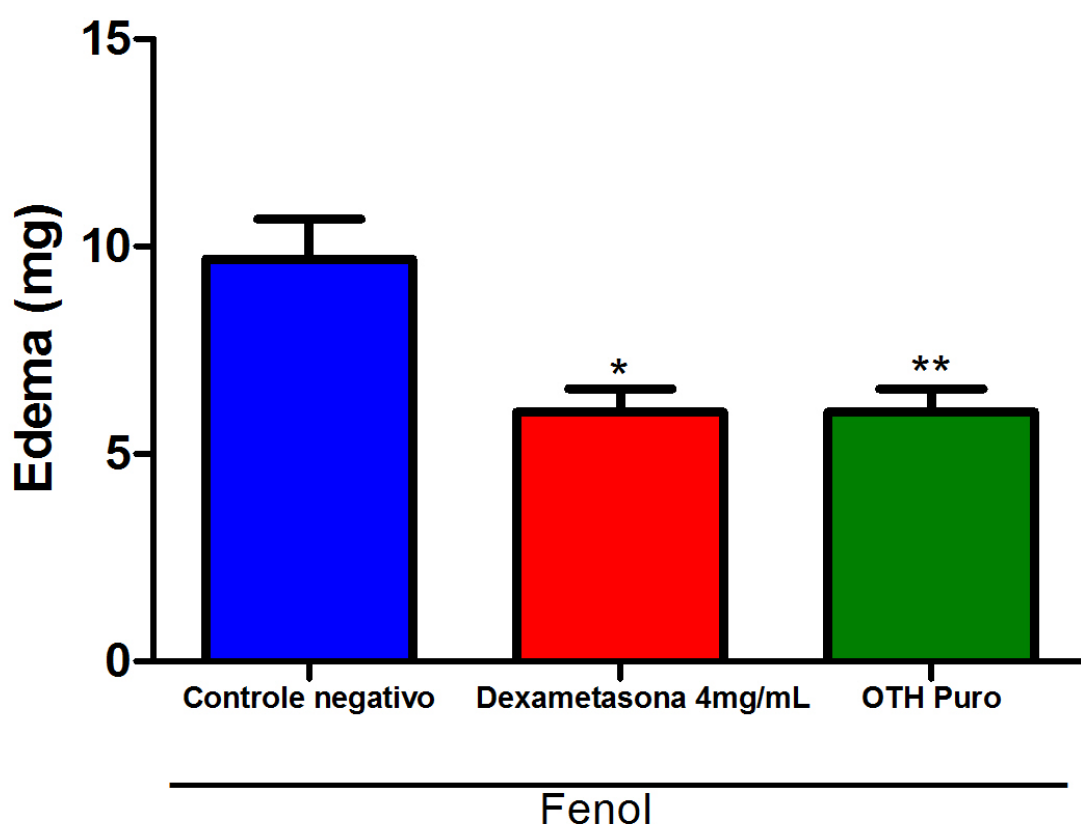


Figura 8. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por fenol em camundongos *Swiss*. Os animais foram pré-tratados com salina, dexametasona (DEX) e OTH puro. Após 15 minutos, receberam topicamente 20 μ L de fenol 10% (v/v) em acetona. O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do percentual de edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 1 hora de aplicação do fenol. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo (salina) e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (** $P < 0,01$ e *** $P < 0,001$). Análise estatística: ANOVA seguida do teste de Student-Newmann-Keuls).

Avaliação do edema de orelha induzido por capsaicina

Para o edema induzido por capsaicina não foi observado inibição do edema em relação ao OTH para com o controle negativa. Apenas o fármaco dexametasona demonstrou seu efeito anti-inflamatório na redução do edema sendo a media de redução de $2,00 \pm 0,60$ mg (inibição de 37,5% e $P < 0,05$) em relação ao controle negativo com um edema de $3,22 \pm 0,38$ mg. O OTH apresentou um grau de edema de $4,05 \pm 0,18$ mg, sendo o $P > 0,05$ não sendo portanto significativo no processo inflamatório induzido por esse agente flogístico. (Figura 9 e Apêndice 5)

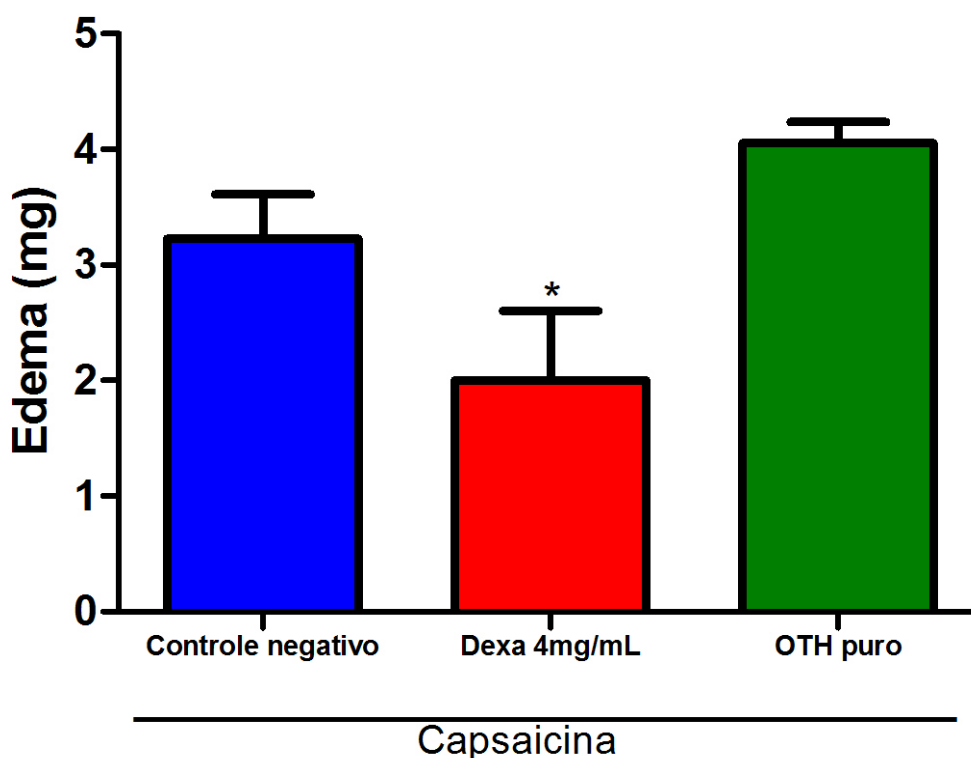


Figura 9. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido por capsaicina em camundongos Swiss. Os animais foram inicialmente pré-tratados com salina (controle negativo), dexametasona (DEX) 0,08 mg/orelha e OTH bruto (20 μ L/orelha). Após 15 minutos, receberam topicamente capsaicina 0,01 μ g/mL em etanol 90%. O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do percentual de edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 30 minutos de aplicação da capsaicina. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo (salina) e foram consideradas significativamente diferentes para $P < 0,05$ (** $P < 0,01$ comparadas ao controle negativo. Análise estatística: ANOVA de uma via seguido do teste de Student-Newmann-Keuls).

Avaliação do edema de orelha induzida por aplicação subcutânea de histamina

No modelo de edema induzido por histamina aplicada intradermicamente, o controle negativo que foi pré-tratado com salina (acetona) teve um edema de $2,78 \pm 0,31$ mg. O grupo pré-tratado com a dexametasona apresentou uma redução do edema em $1,55 \pm 0,35$ mg com percentuação de inibição de 44,2% ($P < 0,05$) e o OTH puro reduziu significativamente o edema em relação ao controle com uma média de $1,40 \pm 0,37$ com percentual de inibição de 49,6% ($P < 0,05$). (Tabela 10 e Apêndice 6)

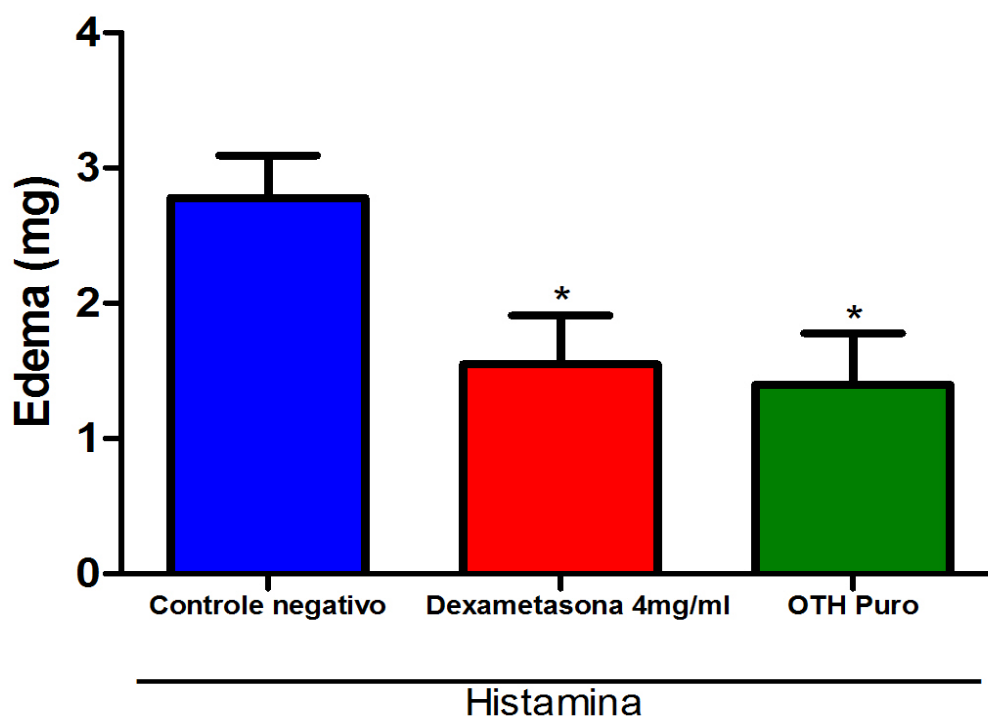


Figura 10. Efeito tópico do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação subcutânea de histamina em camundongos *Swiss*. Os animais, inicialmente anestesiados, foram pré-tratados com salina (Controle negativo), dexametasona (DEX) e OTH puro. Após 15 minutos, receberam intradermicamente na orelha direita uma injeção de $5 \mu\text{L}$ de solução de histamina 100 mg/mL . O efeito antiedematogênico das substâncias foi analisado através do percentual de edema calculado a partir das massas de discos de 6 mm de diâmetro obtidos das orelhas após 2 horas de aplicação da histamina. As médias foram comparadas com o grupo controle negativo e foram consideradas significativas para $P < 0,05$ (* $P < 0,05$ comparadas ao controle negativo. Análise estatística: ANOVA seguida do teste de Student-Newmann-Keuls).

Análise do efeito anti-inflamatório do OTH frente aos modelos de indução de edema

Embora não tenha apresentado nenhuma atividade clinicamente relevante contra bactéria, como se pode observar na Tabela 5, o OTH se mostrou bastante eficiente no tratamento de inflamações tópicas, com base na observação da redução da inflamação no modelo animal usado nesse estudo. Mesmo não sendo eficiente contra as bactérias e agentes infecciosos (que podem causar inflamações) OTH pode reduzir os efeitos das substâncias químicas irritantes. Ferreira *et al.*, (2009) encontrou resultados semelhantes ao estudar o efeito medicinal do óleo da banha de *Tupinambis merianae* que, embora não apresentou efeito antibacteriano se mostrou eficiente na redução de inflamações tópicas induzidas pelos mesmos agentes flogísticos utilizados nesse estudo.

Para Das (2008), ácidos graxos agem diretamente nos processos inflamatórios. De acordo com Griswold *et al.*, 1987, a membrana plasmática das células epidérmica produz Ácido araquidônico que é oxidado formando prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, responsáveis pela inflamação, como parte da resposta imune provocada pelos antígenos como fosfolipase A2 (PLA2).

Estudos têm documentado que os ácidos graxos demonstram atividade anti-inflamatória, apoiando a sua utilização no tratamento de inflamações da pele (Calder, 2005; Das, 2006, 2008). Ferreira *et al.*, (2009) demonstraram a eficácia medicinal da banha de *T. merianae* como anti-inflamatório em modelos de edema de pata e de orelha.

Como dito anteriormente foram avaliadas as concentrações de óleo fixo de *T. hispidus* de 100 mg/mL, 200 mg/mL e 400mg/mL e o óleo puro. O óleo puro por apresentar melhor efeito anti-inflamatório se tornou a única dose a ser testada.

O método de estudo da inflamação induzida pela aplicação múltipla de óleo de cróton simula o tratamento tradicional realizado pelos medicamentos antiinflamatórios, que é justamente realizado após a instalação do processo inflamatório, o que para Alford *et al.*, 1992, permite uma avaliação da atividade dos compostos capazes de promover a resolução de um processo inflamatório crônico. Nesse modelo, o óleo de cróton desencadeia um processo inflamatório contínuo característicos de algumas doenças inflamatórias crônicas da pele, sendo esta reação inflamatória seguida pelo aumento do peso das orelhas, migração intensiva celular de linfócitos T, neutrófilos e macrófagos (Stanley *et al.*, 1991) . Para Green e Shuster (1987), Antiinflamatórios esteroidais (corticóides) e inibidores da LOX são ativos nesse modelo, enquanto os inibidores da COX, se mostram inativos. O OTH e a dexametasona inibiram o edema comparados ao grupo controle. Quando comparamos o efeito do OTH puro no modelo de aplicação única e múltipla de óleo de cróton, observamos que a media de inibição do edema foi mais eficiente no modelo de aplicação múltipla (63,7%) com tratamento de 4 dias (Figura 5 e 6). Isso pode ser explicado devido a biodisponibilidade de substancias que proporcionam ação anti-inflamatorias no local.

O ácido araquidônico ao ser aplicado topicamente é metabolizado em vários mediadores que induzem a formação do edema, como a PGE₂, LTC₄ e LTD₄, como consequência do processo inflamatório instalado (Humes *et al.*, 1986). Assim, compostos que inibem o metabolismo do ácido araquidônico em prostaglandinas e leucotrienos podem ser identificados neste modelo. A aplicação tópica do AA gera uma resposta inflamatória rápida caracterizada por intenso eritema e edema com pequeno acúmulo de neutrófilos, mediados por PGE₂, LTC₄ e LTD₄, (Crummey *et al.*, 1987; Humes *et al.*, 1986; Young *et al.*, 1983).

No entanto, Recio *et al.*, (2000) sugerem que o edema induzido pelo AA é preferencialmente um modelo de triagem para identificação de inibidores da LOX. Os antiinflamatórios não-esteroidais (AINE) inibem a via da COX, impedindo, portanto a síntese das PG (Brooks & Day, 1991). Dessa forma, o fármaco de referência utilizado neste modelo experimental foi a indometacina, um AINE de ação antiinflamatória relacionada com a inibição não-seletiva das isoformas da COX (COX-1 e COX-2) e que reverte de maneira efetiva o edema induzido pela aplicação tópica do AA, conforme já descrito na literatura por Gábor, (2000). Da mesma forma que a indometacina, o OTH também se mostrou efetivo na inibição da formação do edema neste modelo, diminuindo significativamente o edema nas orelhas sensibilizadas por AA em relação ao grupo controle negativo (Figura 7 e Apêndice 3). Segundo Carlson *et al.*, (1985) modelos de edema induzidos por óleo de croton e AA são extremamente úteis na detecção de possíveis inibidores COX / LOX in vivo. Assim presumi-se que o OTH é eficiente em desordens inflamatórias da pele e que o uso desse lagarto na zooterapia no cuidado das doenças inflamatórias pode estar relacionado com a diminuição dos níveis de metabolitos do AA no tecido cutâneo.

A capsaicina (8-metil-Nvanilil-6-nonenemida) é um alcalóide encontrado na espécie *Capsicum annuum L.*, e quando aplicada na pele produz uma imediata resposta inflamatória neurogênica, que se caracteriza por vasodilatação arteriolar, aumento de fluxo sanguíneo e conseqüente formação de edema por extravasamento plasmático, além de sensibilização a dor (Rauh, 2008). Tal efeito provém da estimulação de neurônios sensoriais de pequeno diâmetro e da liberação de mediadores neurogênicos da inflamação como a histamina, serotonina e de neuropeptídeos, seguido da formação de edema cujo pico máximo é atingido até 30 minutos após a aplicação tópica da capsaicina (Zegarska *et al.*, 2006; Sholzen *et al.*, 2003; Gábor, 2000; Holzer, 1991).

Por outro lado, é proposto que o edema induzido pela capsaicina seja primariamente mediado por neuropeptídeos (substância P, CGRP, VIP e neurocinina A) liberados após ativação dos neurônios sensoriais, e estes, por sua vez, estimulam a liberação de histamina e serotonina, sendo estes últimos os mediadores responsáveis pelo aumento da permeabilidade vascular no tecido inflamado segundo Inoue *et al.*, 1993. O OTH não inibiu a formação do edema, induzido pela aplicação tópica da capsaicina, o que sugere que os compostos presentes no OTH parecem não agir diretamente nos receptores nos quais a capsaicina promove seu efeito (receptores TRPV1). Estudos demonstram que o edema induzido pela aplicação tópica da capsaicina é inibido por antagonistas da histamina e serotonina, mas não por inibidores da COX, como a indometacina (metabólitos do ácido araquidônico) (Inoue *et al.*, 1993). Na figura 7 e Apêndice 3 podemos observar podemos observar que OTH inibiu o edema induzido por AA e óleo de cróton, sugerindo mais uma vez sua provável participação na diminuição da síntese de prostaglandinas (Garbor, 2000).

No modelo de edema induzido pela histamina aplicada intradermicamente, tal agente flogístico causa vasodilatação e um aumento na permeabilidade vascular, promovendo uma resposta edematogênica em poucos minutos (Brand *et al.*, 2002). A histamina ainda estimula fibras nervosas sensitivas através de mecanismos H1-dependentes que resulta em prurido. (Rang *et al.*, 2007). A reação de hipersensibilidade imediata ocorre após a degranulação dos mastócitos e liberação da histamina. A aplicação tópica prévia do OTH promoveu a inibição do edema induzido pela histamina com um grau de significância de $P < 0,05$ (Apêndice 6 e Figura 10). O OTH poderia ainda ser útil no alívio de alguns sintomas da hipersensibilidade imediata, como o prurido decorrente de algumas situações como picadas de insetos, interação com

alérgenos, como exemplo, alguns oriundos de plantas. Porém, para tal indicação ainda é necessário a realização de experimentos que confirmem sua atividade anti-pruriginosa.

O OTH bruto reduziu de maneira significativa o edema induzido por fenol (Figura 8 e Apêndice 4) quando comparado com o grupo controle demonstrando uma possível eficácia desse extrato no tratamento da dermatite de contato frente a agentes irritantes. Em resposta a estímulos exógenos, como o fenol, os queratinócitos produzem mediadores químicos importantes na irritação primária de contato, incluindo citocinas associadas a propriedades pró-inflamatórias, tais como IL-1 α , TNF- α e IL-8 (Lim *et al.*, 2004; Wilmer *et al.*, 1994). Um dos mecanismos pelos quais o fenol desencadeia a irritação cutânea seria a ruptura da membrana plasmática dos queratinócitos por efeito direto, resultando na liberação da IL-1 α pré-formada, além de outros mediadores inflamatórios como os metabólitos do AA e ROS. As citocinas próinflamatórias são induzidas nesse modelo por um mecanismo diferente daquele observado no modelo de inflamação cutânea induzido pelo TPA, onde a indução das citocinas ocorre via ligação a receptores específicos, através de vias dependentes da PKC, nas quais envolvem fatores de transcrição nuclear (Wilmer *et al.*, 1994). Porém, apesar da resposta inflamatória ser desencadeada por diferentes vias, ambos os modelos compartilham do envolvimento dos metabólitos do AA e ROS na resposta inflamatória instalada. Dessa forma, esses dados sugerem que o OTH pode estar exercendo sua ação antiinflamatória por atuar sobre esses mediadores, como demonstrado no modelo do AA.

Calder (2005) propõe que a utilização de ácidos graxos poderia resultar em uma substituição parcial do ácido araquidônico nas membranas celulares por outros tipos de ácidos graxos (por exemplo, eicosapentaenóico ou ácidos docosahexaenóico), o que levaria uma diminuição na produção de ácido araquidônico e seus derivados resultando na atenuação da inflamação.

Tendo em vista os modelos de edema de orelha induzidos por óleo de cróton, AA, capsaicina, histamina e fenol, verifica-se que possivelmente o OTH apresenta comportamento semelhante a fármacos que reduzem a produção de metabólitos do AA. Sugere-se, portanto, que a ação antiedematogênica do OTH esteja ligada a fatores que modifiquem a produção de eicosanoides inflamatórios, podendo sua ação se dar por inibição das enzimas COX e LOX ou por produção de eicosanoides anti-inflamatórios (PGE1, lipoxinas ou outros).

A atividade antiinflamatória de produtos naturais obtidos a partir de animais tem sido verificada em outros estudos. Yoganathan *et al.*, (2003) avaliou a atividade anti inflamatória do óleo de de *Dromaius novaehollandiae* em modelos de inflamação em ratos da usando croton óleo como agente flogístico. A porcentagem de inibição do edema em camundongos tratados com óleo *Dromaius novaehollandiae* foi de 70%. Falodun *et al.*, (2008) observaram a eficácia da gordura de *Boa constrictor* contra a inflamações da pele, cujos três concentrações de gordura apresentaram uma porcentagem de redução do edema de 65% (12 mg / orelha), 42% (6 mg / orelha) e 63% (3 mg / orelha). Estes resultados mostram a relevância para avaliar mais os produtos naturais obtidos de animais contra doenças inflamatórias.

Costa-Neto & Alves, (2010) afirmam que o uso disseminado e constante de matérias-primas de origem animal e o relato testemunhal de seus usuários quanto a sua eficácia permitem supor que substancias de valor farmacológico ainda desconhecidas ou pouco investigadas pela ciência possam estar presentes. Sendo adequadamente estudados, tais conhecimentos podem abrir perspectivas para a descoberta de novas fontes de remédios para o bem-estar humano, além de possibilitar a valorização econômica de espécies animais consideradas como nocivas e/ou inúteis.

CONCLUSÕES

1. Os decoctos e extratos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* quando isolados não apresentaram inibição do crescimento bacteriano frente as cepas *E. coli*, *S. aureus* e *P. aureuginosa*;
2. O OTH não demonstrou nenhuma atividade antimicrobiana isolado ou em associação com aminoglicosídeos frente as bactérias *E. coli*, *S. aureus* e *P. aureuginosa*;
3. Quando em associação com aminoglicosídeos os decoctos de *T. hispidus* e *T. semitaeniatus* diminuíram a CIM dos antibióticos Amicacina, Canamicina, Gentamicina e Neomicina frente as cepas bacterianas *S. aureus* e *P. aureuginosa*;
4. O extrato metanólico da pele de *T. hispidus* em associação com a Gentamicina apresentou modulação significativa reduzindo a CIM deste antibiótico e em associação com a Amicacina apresentou efeito antagônico aumentando a CIM do aminoglicosídeo;
5. O óleo derivado da gordura corporal *T. hispidus* demonstra atividade anti-inflamatória contra o edema de orelha induzido por óleo de cróton, o ácido araquidônico, histamina e fenol. Os ácidos graxos presentes no OTH provavelmente respondem a inibição via do ácido araquidônico e seus metabólitos, reduzindo assim a produção de mediadores pró-inflamatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOT NC, WHITE AR, ERNST E (1996). Complementary medicines. *Nature* 381:361

ABREU, M.L. de S., FROTA, J.G. & YUKI, R.N. (2002). Geographic distribution, *Tropidurus hispidus*. *Review Herpetology* 33(1):66.

AGUIAR JS, COSTA MCCD, NASCIMENTO SC, SENA KXFR. (2008). Atividade antimicrobiana de *Lippia alba* (Mill.) N. E. Brown (Verbenaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18: 436-440.

ALMEIDA, A.V. (2005): Prescrições zoterápicas indígenas brasileiras nas obras de Guilherme Piso (1611-1679). In: Atualidades em Etnobiologia e Etnoecologia, pp. 47-60. Alves, A.G.C., Lucena, R.F.P., Albuquerque, U.P., Eds, Nuppea, *Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia*.

ALMEIDA, C. F. C. B. R. de; ALBUQUERQUE, U. P. (2002). Uso e conservação de plantas e animais medicinais no estado de Pernambuco (nordeste do Brasil): um estudo de caso. *Interciencia, Caracas*, 27(6): 276-28.

ALVES RRN, ROSA IL (2006) From cnidarians to mammals: the use of animals as remedies in Wshing communities in NE Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 107:259–276

ALVES RRN, ROSA IL (2007a) Biodiversity, traditional medicine and public health: where do they meet? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 3(14):1–9

ALVES RRN, ROSA IL (2007b) Zootherapeutic practices among Wshing communities in north and northeast Brazil: a comparison. *Journal of Ethnopharmacology* 111(1):82–103.

ALVES RRN, ROSA IL (2007c) Zotherapy goes to town: the use of animal-based remedies in urban areas of NE and N Brazil. *Journal of Ethnopharmacol* 113:541–555

ALVES RRN, ROSA IL, SANTANA GG (2007a) The role of animal-derived remedies as complementary medicine in Brazil. *BioScience* 57(11):1–7

ALVES, R.R.N. (2002). Aspectos da bioecologia e captura do caranguejo-uçá *Ucides cordatus cordatus* (L. 1763) Decapoda, Brachyura) no manguezal do estuário do rio Mamanguape, Paraíba: um enfoque social e etnoecológico. (2002). Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia). *Universidade Federal da Paraíba*.

ALVES, R.R.N., (2006). Use of marine turtles in zotherapy in Northeastern Brazil. *Marine Turtle Newsletter* 112: 16–17.

ALVES, R.R.N., (2008). Animal-based remedies as complementary medicine in Brazil. *Research in Complementary Medicine* 15: 4–14.

ALVES, R.R.N., BARBOZA, R.R.D., SOUTO, W.M.S., (2010b). A Global overview of canids used in traditional medicines. *Biodiversity and Conservation*, doi:10.1007/s10531-010-9805-1.

ALVES, R.R.N., LÉO NETO, N.A.L., SANTANA, G.G., VIEIRA, W.L.S., ALMEIDA, W.O., (2009). Reptiles used for medicinal and magic religious purposes in Brazil. *Applied Herpetology* 6:257–274.

ALVES, R.R.N., PEREIRA FILHO, G.A., LIMA, Y.C.C. (2007b): Snakes used in ethnomedicine in Northeast Brazil. *Environment, Development and Sustainability*. 9: 455-464.

ALVES, R.R.N., PEREIRA-FILHO, G.A., (2007). Commercialization and use of snakes on North and Northeastern Brazil: implications for conservation and management. *Biodiversity and Conservation* 16: 969–985.

ALVES, R.R.N., PEREIRA-FILHO, G.A., LIMA, Y.C.C., in press. Snakes used in Ethnomedicine in Northeast Brazil. *Environment, Development and Sustainability*, doi:10.1007/s10668-006-9031-x.

ALVES, R.R.N., ROSA, I.L., (2005). Why study the use of animal products in traditional medicines? *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 1: 1–5.

ALVES, R.R.N., ROSA, I.L., (2006). From cnidarians to mammals: The use of animals as remedies in fishing communities in NE Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 107: 259–276.

ALVES, R.R.N., ROSA, I.L., (2007). Zootherapeutic practices among fishing communities in North and Northeast Brazil: a comparison. *Journal of Ethnopharmacology* 111: 83–103.

ALVES, R.R.N., SANTANA, G.G. (2008): Use and commercialization of *Podocnemis expansa* (Schweiger 1812) (Testudines: Podocnemididae) for medicinal purposes in two communities in North of Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 4: 1-6.

ALVES, R.R.N., SOUTO, W.M.S., BARBOZA, R.R.D., (2010a). Primates in traditional folk medicine: a world overview. *Mammal Review* 40: 155–180.

ALVES, R.R.N.; NISHIDA, A.K. (2002). A ecdise do caranguejo-uçá, *Ucides cordatus* (Crustacea, Decapoda, Brachyura) na visão dos caranguejeiros. *Interciencia* 27(3).

ANDRADE, J. N. e COSTA-NETO E. M.(2005) Primeiro registro da utilização medicinal de recursos pesqueiros na cidade de São Félix, Estado da Bahia, Brasil. *Acta Scientiarum Biological Sciences Maringá*, 27(2): 177-183.

ARARIPE. Fundação Arairpe. Disponível em: <<http://www.fundacaoarairpe.org.br>> Acessado em 03/ 01 /2011.

AURICCHIO, P.; SALOMÃO, M. G. (Orgs.)(2002). Técnicas de coleta e preparação de vertebrados para fins científicos e didáticos. *Instituto Pau Brasil de História Natural, São Paulo, 348p.*

AZEVEDO F.C.C. E V. A. CONFORTI (2002). Fatores predisponentes à predação, p. 27-28. In: M.R.P. Leite-Pitman; T.G. oliveira, R.C Paula & C. Indrusiak(Eds). Manual de Identificação, prevenção e controle de predação por carnívoros, *Brasília, edições Ibama, 83p.*

B. BALAMURUGAN AND B. R. (2009) Mehta Optical and structural properties of nanocrystalline copper oxide thin films prepared by activated reactive evaporation, *Elsevier, 396(21):90-96.*

B.G. BRASILEIRO, V.R. PIZZIOLO, D.S. RASLAN, C.M. JAMAL, D. SILVEIRA (2006), Antimicrobial and cytotoxic activities screening of some Brazilian medicinal plants used in Governador Valadares district, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas 42: 195–202.*

BABU SPS, SARKAR D, GHOSH NK, SAHA A, SUKUL NC, BHATTACHARYA S (1997). Enhancement of membrane damage by saponins isolated from *Acacia auriculiformis*. *Japanese Journal of Pharmacology 75: 451-454.*

BADILLA, B.; CAMBRONERO, J.; CICCIO, J. F.; CORDERO, T.; MORA, G. BAHUCHET S (1992) Esquisse de l'ethnoichthyologie des Yasa du Cameroun. *Anthropos 87: 511-520.*

BADILLA, B., CAMBRONERO, J., CICCIO, J.F., (2007). Determination of topical anti-inflammatory activity of the essential oil and extracts of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown (Verbenaceae), using the model of mouse ear edema induced by TPA and AA. *Pharmacognosy Magazine, 3 :11.*

BARBOSA, A. R.(2007) Os humanos e os répteis da mata: uma abordagem etnoecológica de São José da Mata – Paraíba. João Pessoa-PB., 145. *Dissertação – Universidade Federal da Paraíba – Prodepa.*

BAHUCHET, S.(1992). Esquisse de l'ethnoichthyologie des Yasa du Cameroun. *Anthropos, Fribourg*, 87:511-520.

BAZZANO, F. C. O.(2006) Aspectos Éticos da Pesquisa Científica, In: SILVA, José Vitor da (Org.) *et al.*, *Bioética: meio ambiente, saúde e pesquisa. São Paulo: Iátria*. 149-180.

BEGOSSI, A., SILVANO, R.A.M., AMARAL, B.D. (1999): Uses of fish and game by inhabitants of an Extractive Reserve (Upper Juruá, Acre, Brazil). *Environment, Development and Sustainability*. 1: 73-93.

BENOIT-VICAL F, GRELLIER P, ABDOULAYE A, MOUSSA I, OUSMANE A, BERRY A (2006): *In vitro* and *in vivo* Antiplasmodial Activity of *Momordica balsamina* Alone or in a Traditional Mixture. *Chemotherapy*, 52:288-292.

BERGALLO, H.G. & ROCHA, C.F.D. (1993). Activity and body temperatures of two sympatric lizards (*Tropidurus torquatus* and *Cnemidophorus ocellifer* with different foraging tactics in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 14: 312-315.

BERLIN, B.(1992) On the making of a comparative ethnobiology. In: Ethnobiological Classification: principles of categorization of plants and animals in traditional societies, Princeton, *Princeton University*.

BLAZSÓ, G.; GÁBOR, M.(1995) Effects of prostaglandin antagonist phloretin derivatives on mouse ear edema induced with different skin irritants. *Prostaglandins*, 50:161- 168.

BOSCH, T.C.G., AUGUSTIN, R., ANTON-ERXLEBEN, F., (2009). Uncovering the evolutionary history of innate immunity: the simple metazoan *Hydra* uses epithelial cells for host defence. *Developmental and Comparative Immunology* 33: 559–569.

BRAND, C., TOWNLEY, S.L., FINLAY-JONES, J.J., HART, P.H., (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced oedema in murine ears. *Inflammation Research* 51: 283–289.

BRASIL. Lei Nº 11.794 de 08 de outubro de 2008 (“lei Arouca”), regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei nº 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, 09 out. 2008.*

BRUHN, J. G. E HOLMSTEDT, B.(1982) “Ethnopharmacology, objectives, principles and perspectives”. In: *Natural products as medicinal agents. Stuttgart: Hippokrates.*.

BRUNETON, J.(1999) Pharmacognosy, Phytochemistry, medicinal plants. Paris: Lavoisier, *Secaucus: Intercept, 784-799.*

BURT SA, REINDER RD (2003). Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* 0157:H7. *Letters Applied Microbiology*, 36:162-167.

CALDER, P. C. (2001) Polyunsaturated fatty acids, inflammation and immunity. *Lipids*, 36(9):1007-1024.

CALDER, P.C., (2005). Polyunsaturated fatty acids and inflammation. *Inflammation and Haemostasis* 33:423–427.

CALVET-MIN, L., REYES-GARCÍA, V., TANNER, S., 2008. Is there a divide between local medicinal knowledge and Western medicine? A case study among native Amazonians in Bolivia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 4, 18.

CARDOSO, (1998-2001) Telma Abdalla de Oliveira. Considerações sobre a biossegurança em arquitetura de biotérios. *Boletim Central. Panamense Febre Aftosa*, 64(67):3-17.

CARLSON, R.; O'NEILL-DAVIS, O.; CHANG, J.; LEWIS, A. J.(1985) Modulation of mouse ear edema by cyclooxygenase and lipoxygenase inhibitors and other pharmacologic agents. *Agents Actions*, 17:197-204.

CENTRO BRASILEIRO DE CLASSIFICAÇÃO DE DOENÇAS (CBCD), (1993). Classificação Estatística Internacional de Doenças e Problemas Relacionados à Saúde. Décima Revisão, vol. I. Organização Mundial da Saúde (OMS). Organização Pan-Americana de Saúde—OPAS. <http://www.datasus.gov.br/cid10/webhelp/cid10.htm>.

CHANG, J., CARLSON, R.P., O'NEILL-DAVIS, L., (1986). Correlation between mouse skin inflammation induced by arachidonic acid and eicosanoid synthesis. *Inflammation* 10:205–214.

CHIVIAN, E., (2002,2005). Biodiversity: Its Importance to Human Health Center for Health and the Global Environment. *Harvard Medical School. Ciências*, 77 (1): 33-43.

CISCOTTO, P. ; MACHADO DE AVILA, R.A. ; COELHO, E.A.F. ; OLIVEIRA, J. ; DINIZ, C.G. ; FARÍAS, L.M. ; DE CARVALHO, M.A.R. ; MARIA, W.S. ; SANCHEZ, E.F. ;BORGES, A. AND CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C.(2009) ;Antigenic, microbicidal and antiparasitic properties of an l-amino acid oxidase isolated from *Bothrops jararaca* snake venom, *Toxicon:Elsevier* 53(3):330-341

COSTA NETO EM (1994) Etnoictiologia alagoana, com ênfase na utilização medicinal de insetos. Monografia. *Universidade Federal de Alagoas. Maceió*. 192 pp.

COSTA NETO, E. M. (2009) A etnozootologia no Brasil: um panorama bibliográfico. *Bioikos, Campinas*, 14(2):31-45, 2000a.

COSTA NETO, E. M. (2000c) Conhecimento e usos tradicionais de animais por uma comunidade afro-brasileira do Parque Nacional Chapada Diamantina, Bahia, Brasil: resultados preliminares. *Interciencia, Caracas*, 25(9):423-431.

COSTA NETO, E. M.(1999) Healing with animals in Feira de Santana City, Bahia. *Journal of Ethnopharmacology, Leiden* 65:225-230.

COSTA NETO, E. M. (2000b) Introdução à etnoentomologia: considerações metodológicas e estudo de casos. Feira de Santana: UEFES,. 131 p.

COSTA NETO, E. M.; OLIVEIRA, M. V. M. (2000) Cockroach is good for asthma: zootherapeutic practices in Northeastern Brazil. *Human Ecology Review, Fairfax*, 7,(2): 41-51.

COSTA-NETO EM AND OLIVEIRA MVM. (2000). Cockroach is good for asthma: zootherapeutic practices in Northeastern Brazil. *Human Ecology Review* 7: 41–51.

COSTA-NETO EM. (1999a). Healing with animals in Feira de Santana city, Bahia, *Brazilian Journal of Ethnopharmacology*, 65: 225–230.

COSTA-NETO, E.M. (2005): Animal-based medicines: biological prospection and the sustainable use of zootherapeutic resources. *An. Academia Brasileira de Ciências* 77: 33-43.

COSTA-NETOEM. (2004). Implications and applications of folk zotherapy in the State of Bahia, Northeastern Brazil. *Sustainability and Development*, 12: 161–174.

COUTINHO HDM, COSTA JGM, FALCÃO-SILVA VS, LIMA EO, SIQUEIRA JP JÚNIOR, (2008). Enhancement of the antibiotic activity against a multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and chlorpromazine. *Chemotherapy*, 54:328-330.

COUTINHO HDM, COSTA JGM, LIMA EO, FALCÃO-SILVA VS, SIQUEIRA JR JP. (2008a). Enhancement of the Antibiotic Activity against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. *Chemotherapy* 54: 328–330

COUTINHO HDM, COSTA JGM, SIQUEIRA JR JP, LIMA EO. (2008b). In vitro anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains. *Rev Bras Farmacogn* 18: 670-675.

COUTINHO, H.D.M., VASCONCELLOS, A., LIMA, M.A., ALMEIDA-FILHO, G.G., ALVES, R.R.N., (2009). Termite usage associated with antibiotic therapy: enhancement of aminoglycoside antibiotic activity by natural products of *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855). *BMC Complementary and Alternative Medicine* 9:35.

COUTINHO, D. M ; COSTA, J. G. M. SIQUEIRA-JÚNIOR, J. P. ;LIMA E.(2008) O *In vitro* anti-staphylococcal activity of *Hyptis martiusii* Benth against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*-MRSA strains *Revista Brasileira de Farmacognosia; Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 18.

CRUMMEY, A., HARPER, G. P., BOYLE, E. A., MANGAN, F. R.(1987) Inhibition of arachidonic acid-induced ear oedema as a model for assessing topical antiinflammatory compounds. *Agents Actions*, 20:69-76.

CRUMMEY, A., HARPER, G. P., BOYLE, E. A., MANGAN, F. R. Inhibition of Cullen Jr .,L.;R.E. Bodmer & C.V. Padua. (2000). Effects of hunting in habitat fragments of the Atlantic Forests, Brazil. *Biological Conservation. Essex*, 95: 49-56.

CUNNINGHAM, A.B.(1993) "Ethics, ethnobiological research, and biodiversity". In: *WWF international publications, Gland, Switzerland*.

D'OLNE CAMPOS M (1995) Homem, saber e natureza. *Unicamp. Campinas*.

DAFERERA, D.J., ZIOGAS, B.N. & POLISSIOU, M.G. (2003). The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. *Crop Protection*, 22: 39-44.

DALY JW, WARE N, SAPORITO RA, SPANDE TF, GARRAFFO HM.(2009) N-methyldecahydroquinolines: an unexpected class of alkaloids from Amazonian poison frogs (Dendrobatidae). *Journal of Natural Products*, 72(6):1110-4.

DAS, U.N., (2006). Essential fatty acids – a review. *Current Pharmaceutical Biotechnology* 7: 3–19.

DAS, U.N., (2008). Essential fatty acids and their metabolites could function as endogenous HMG-CoA reductase and ACE enzyme inhibitors, anti-arrhythmic, anti-hypertensive, anti-atherosclerotic, anti-inflammatory, cytoprotective, and cardioprotective molecules. *Lipids in Health and Disease* 7: 37.

DAVID, J.P., ANDERSON, L.A., (1969). Ethnopharmacology and western medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 25: 61–72.

DE SMET, P.A.G.M., (1991). Is there any danger in using traditional remedies? *Journal of Ethnopharmacology* 32: 43–50.

DEHARO, E.; BOURDY, G.; QUENEVO, C.; MUÑOZ, V.; RUIZ, G.; SAUVAIN, M. (2001). A search for natural bioactive compounds in Bolivia through a multidisciplinary approach. V. Evaluation of the antimalarial activity of plants used by the Tacana Indians. *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 91-98.

DESMARCHELIER, C.; LISBOA ROMÃO, R.; COUSSIO, J.; CICCIA, G. (1999). Antioxidant and free radical scavenging activities in extracts from medicinal trees used in the “Caatinga” region in northeastern Brazil. *Journal of Ethnopharmacology*, 67: 69-77.

DÍAZ-URIARTE, R (2000). Effects of aggressive interactions on antipredator behavior: empirical and theoretical aspects. *Dissertação de doutorado, University of Wisconsin, Madison, 145p.*

DÍAZ-URIARTE, R. (1999). Anti-predator behaviour changes following an aggressive encounter in the lizard *Tropidurus hispidus*. *Proceedings of the Royal Society London Biology*, 266:2457-2464.

DUARTE MCT, FIGUEIRA GM, SARTORATTO A, REHDER VLG, DELARMELINA C.(2005) Anti-Candida activity of Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 97:305-311.

ELISABETSKY, E. E SETZER, R.(1985) “Caboclo concepts of disease, diagnosis and therapy: implications for Ethnopharmacology and health systems in Amazonia”. In: *The amazon caboclo: historical and contemporary perspectives*. Williamsburgh: *Studies On Third World Societies Publication Series*, 32:243.

ELISABETSKY, E. (1986) Etnofarmacologia. *Journal of Ethnobiology*, 6:121.

FALODUN, A., OWOLABI, O.J., OSAHON, O., (2008). Physicochemical, antimicrobial and anti-inflammatory evaluation of fixed oil from *Boa constrictor*. *Acta Poloniae Pharmaceutica Drug Research* 65: 477–480.

FAN- KAN C, BRILLANCEAU MH, HUSSON HP (2008). Isolation and biomimetic conversion of 4,21-dehydro-geissoschizine. *Journal of Chemistry Society* 22: 1015-1016.

FAN, C., ZHANG, S., LI, L., CHAO, Y., (2008). Fibrinogen-related protein from amphioxus *Branchiostoma belcheri* is a multivalent pattern recognition receptor with a bacteriolytic activity. *Molecular Immunology* 45: 3338–3346.

FERRANDIZ, M. L.; GIL, B.; SANZ, M. J.; UBEDA, A.; ERAZO, S. GONZÁLEZ, E.; NEGRETE, R.; PACHECO, S.; PAYA, M.; ALCARAZ, M. J.(1996) Effect of Bakuchiol on Leucocyte Functions and Some Inflammatory Responses in Mice. *Journal of Pharm. Pharmacology*, 48(9):975-980.

FERREIRA, F.S., BRITO, S.V., RIBEIRO, S.C., ALMEIDA, W.O., ALVES, R.R.N., (2009b). Zootherapeutics utilized by residents of the community Poco Dantas, Crato-CE, Brazil. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 5:21.

FERREIRA, F.S., BRITO, S.V., RIBEIRO, S.C., SARAIVA, A.A.F., ALMEIDA, W.O., ALVES, R.R.N., (2009a). Animal-based folk remedies sold in public markets in Crato and Juazeiro do Norte, Ceara, Brazil. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 9:1–18.

FERREIRA, FS., SILVA, NL., MATIAS, EFF., BRITO, SV., OLIVEIRA, FG., COSTA, JGM., COUTINHO, HDM., ALMEIDA, WO., ALVES, RRN., (no prelo). Potentiation of aminoglycoside antibiotic activity using the body fat from the snake *Boa constrictor*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*.

FITZGERALD, L.A., PAINTER, C.W., REUTER, A (2004): Collection, Trade, and Regulation of Reptiles and Amphibians of the Chihuahuan Desert Ecoregion. TRAFFIC North America. *Washington, DC, World Wildlife Fund*.

FRANKE, M.S., TELECKY, T.M. (2001): Reptiles as Pets: An Examination of the Trade in Live Reptiles in the United States. *Hum.Soc. United States*.

FRAZIER, J. (2005): Traditional and cultural use of marine turtles. THIRD MEETING OF THE SIGNATORY STATES. Memorandum of Understanding on the Conservation and Management of Marine Turtles and their Habitats of the Indian Ocean and South-East Asia. *Bangkok*.

FREIRE, F.C. de J (1996) Répteis utilizados na medicina popular do estado de Alagoas. Monografia (Especialização em Zoologia). *UFAL. Maceió*.

GABOR, M. (2000) Mouse ear inflammation models and their pharmacological applications. *Budapeste: Akadémiai Kiadó*.

GABOR, M., RAZGA, Z. (1992). Development and inhibition of mouse ear oedema induced with capsaicin. *Agents Actions*, 36:83-86.

GAYOSO CW, LIMA EO, OLIVEIRA VT, PEREIRA FO, SOUZA EL, LIMA IO, NAVARRO DF. (2005) Sensitivity of fungi isolated from onychomycosis to *Eugenia cariophyllata* essential oil and eugenol. *Fitoterapia*, 76:247-249.

GEORGOPAPADAKOU N (2005) Infectious disease 2001: drug resistance, new drugs. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer. *Chemotherapy*; 5:181-191.

GIBBONS, J.W., SCOTT, D.E., RYAN, T.J., et al., (2000). The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. *BioScience* 50: 653–666.

GIBBONS S. (2004). Anti-staphylococcal plant natural products. *Natural Product Reports*, 21:263-277.

GRANOWITZ, E.V., BROWN, R.B., (2008). Antibiotic adverse reactions and drug interactions. *Critical Care Clinics* 24: 421–442

GREEN, C.A.; SHUSTER, S. (1987) Lack of effect of topical indomethacin on psoriasis. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 24: 381-384.

GRISWOLD, D.E., WEBB, E., SCHWARTZ, L., HANNA, N., (1987). Arachidonic acid-induced inflammation: inhibition by dual inhibitor of arachidonic acid metabolism, SK&F 86002. *Inflammation* 11: 189–199.

GUERRINI, A., BRUNI, R., MAIETTI, S., (2009). Ecuadorian stingless bee (*Meliponinae*) honey: a chemical and functional profile of an ancient health product. *Food Chemistry* 114: 1413–1420.

HARVEY, A.L., (2008). Natural products in drug discovery. *Drug Discovery Today* 13: 894–901.

HAVERROTH, M. (1997). Etnobotânica: uma revisão teórica. *Antropologia em primeira mão, Florianópolis*, 20: 1-56.

HELANDER, I.M., H.L. ALAKOMI, K. LATVA-KALA, T. MATTILA SANDHOLM, I. POL, E.J. SMID & L.G.M. GORRIS (1998) *J. Agric. Food. Chem.* 46: 3590-3595.

HERNÁNDEZ T, CANALES M, AVILA JG, DURAN A, CABALLERO J, ROMO DE VIVAR A (2003). Ethnobotany and antibacterial activity of some plants used in traditional medicine of Zapotitán de las Salinas, Puebla (México). *Journal of Ethnopharmacology*, 88(1): 181-8.

HENRY, G.E., MOMIN, R.A., NAIR, M.G., DEWITT, D.L., (2002). Antioxidant and cyclooxygenase activities of fatty acids found in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50: 2231–2234

HUNT, B., VINCENT, A.C.J., (2006). Scale and sustainability of marine bioprospecting for pharmaceuticals. *Ambio* 35:57–64.

IBGE Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Canal cidades
<http://www.ibge.gov.br/cidadesat/default.php>

INOUE, H.; NAGATA, N.; KOSHIHARA, Y. (1995). Participation of serotonin in capsaicin-induced mouse ear edema. *Japanese Journal of Pharmacology*, 69:61-68.

INOUE, H.; NAGATA, N.; KOSHIHARA, Y.(1993) Profile of capsaicin-induced mouse ear oedema as neurogenic inflammatory model: comparison with arachidonic acid-induced ear oedema. *British Journal of Pharmacology*, 110:1614-1620.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE), (2006). Estatísticas da saúde: assistência médico-sanitária 2005/IBGE. *Departamento de População e Indicadores Sociais, Rio de Janeiro.*

IPECE- Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará, Perfil básico municipal. Governo do Estado do Ceará, Secretaria do Planejamento e coordenação, (2005).

IVERSEN, L.; KRAGBALLE, K.(2000) Arachidonic acid metabolism in skin health and disease. *Prostaglandin & other Lipids Mediators*, 63:25-42.

JAVADPOUR, M.M., JUBAN, M.M., LO, W.C., (1996). De novo antimicrobial peptides with low mammalian cell toxicity. *Journal Medical Chemistry*, 39:3107–3113.

JU, S. H, FRITZ D, BERNARDI A.P.M., ASCOLI, B. M. ; VON POSER, G. L. (2009). A transferrin-like homolog in amphioxus *Branchiostoma belcheri*: Identification, expression and functional characterization *Molecular Immunology*, 46(15):3117-3124

SILVA, K. L. E FILHO, V. C. (2002). Plantas do gênero *bauhinia*: composição química e potencial farmacológico *Química Nova* , 25(3).

KINDT, T. J.; GOLDSBY, R. A.; OSBORNE, B. (2008) A. Imunologia de Kuby. 6. ed. Trad.: Ana Cristina Arámburu da Silva [et al.,]. *Porto Alegre: Artmed*,.

KLEMENS MW & JB THORBJARNARSON. (1995). Reptiles as a food resource. *Biodiversity and Conservation* 4: 281-98.

KOHLSDORF, T.T.; GARLAND, J.R. & NAVAS, C.A. (2001). Limb and Tail lengths in relation to substrate usage in *Tropidurus* lizards. *Journal of Morphology*, 248:151-164.

KUNIN,W. E. AND J. H. LAWTON. (1996). Does biodiversity matter? Evaluating the case for conserving species. In K. J. Gaston (ed.), *Biodiversity: A biology of Numbers and Difference*, 283-308. *Oxford: Blackwell Science*.

LAPA, A. J.; SOUCCAR, C. S.; LIMA-LANDMAN, M. T. R.; CASTRO, M. S. A.; LIMA, T. C. M.(2003). Métodos de avaliação da atividade farmacológica de plantas medicinais. *Sociedade Brasileira de Plantas Medicinais. Porto Alegre: Metrópole*,i

LIM, H.; PARK, H.; KIM, H.P. (2004) Inhibition of contact dermatitis in animal models and suppression of proinflammatory gene expression by topically applied flavonoid, wogonin. *Archives of Pharmacological Research*, 27(4):442-448.

LIMA MRF, XIMENES CPA, LUNA JS, SANT'ANA AEG.(2006b) The antibiotic activity of some Brazilian medicinal plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 16:300-306.

LIU Y, LIU SJ, ZHANG X, LIN JM. (2007) Antitumor effect of GPICD80 fusion protein in nude mice [Nanfang Yikedaxue, *Xuebao*; 27: 1027-1029

LOPEZ, A.; HUDSON, J.B.; TOWERS, G.H.N. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77:189–196.

LOUREIRO-SILVA, M. R., MOLINA, H. M. e BORGES, D. R.(1999,) Substâncias vasoativas e a modulação do sistema microvascular hepático. *Revista da Associação Medica Brasileira*, 45(3):206-216.

ZHAO, Lu Y; WANG, Y. P; CHEN, ZC; FU, S.Y. (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Actinidia macrosperma* from China. *Natural Products Research*, 22:227-233.

MACHADO, J. G. S.; PINHEIRO, M. S.; MARÇAL, S. H. *et al.*, (2006) Análise bioética da legislação brasileira aplicável ao uso de animais não-humanos em experimentos científicos, p. 45-62. In: GARRAFA, Volnei; CORDÓN, Jorge (Orgs.). *Pesquisas em Bioética no Brasil de hoje*. São Paulo: Gaia.

MAHAWAR, M. M. & JAROLI, D.P.(2006). Animals and their products utilized as medicines by the inhabitants surrounding the Ranthambhore National Park, India. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 2:46

MANN, C.M., MARKHAN, J.L. (1998). A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of applied Microbiology*, 84:538-544.

MARCHIONNI, A. M. T.; PAGNONCELLI, R. M.; REIS, S. R. A. (2006). Influência do meloxicam e da dexametasona no processo inflamatório e no reparo tecidual. *Revista Odonto Ciência, PUCRS*, 21:51.

MARKHAN, J.L. (1998). A new method for determine the minimum inhibitory concentration of essential oils. *Journal of applied Microbiology*, 84:538-544.

MARQUES JGW (1995) Pescando pescadores: Etnoecologia abrangente no baixo São Francisco Alagoano. *NUPAUB/USP, São Paulo*.

MARQUES, J. G. W. (1994). A fauna medicinal dos índios Kuna de San Blás (Panamá) e a hipótese da universalidade zooterápica. *Paper presented at the 46th annual meeting of the Brazilian Society to the Progress of Science in Vitória, Espírito Santo (July)*.

MARTIN G. J. (1995) Ethnobotany: a methods manual. "people and plants" Conservation manuals. *Chapman Hall. London, 268pp*.

MATIAS, E F.F.,; SANTOS, K K. A; ALMEIDA, T. S. COSTA, J.G. M. E COUTINHO.H D.M. (2010). Atividade antibacteriana *In vitro* de *Croton campestris* A., *Ocimum gratissimum* L. e *Cordia verbenacea* DC. *Revista brasileira de Biociencia, Porto Alegre*, 8(3): 294-298.

MATOS FJA. (1997). Introdução a fitoquímica experimental. 2ª Ed-Fortaleza:edições UFC.

MBWAMBO ZH, MOSHI MJ, MASIMBA PJ, KAPINGU MC, NONDO RS. (2007) Antimicrobial activity and brine shrimp toxicity of extracts of *Terminalia brownii* roots and stem. *BMC Complementary Alternative Medicine*, 7:9.

MENDES FR, MATTEI R, TABACH R, RODRIGUES E, CARLINI EA (2005). Avaliação de um extrato de café (BST09101) em modelos animais de depressão e síndrome de abstinência à morfina. *Arq Bras Fitomed Cient* 2:56-66.

MICHELIN DC, MORESCHI PE, LIMA AC, NASCIMENTO GGF, PAGANELLI MO, CHAUD MV 2005. Evaluation of the antimicrobial activity of vegetal extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 15: 316-320.

MIRANDA, A.L.P.; SILVA, J.R.A.; REZENDE, C.M.; NEVES, J.S.; PARRINI, S.C.; PINHEIRO, M.L.B.; CORDEIRO, M.C.; TAMBORINE, E.; PINTO, A.C. (2000). Anti-inflammatory and analgesic activities of the latex containing triperpenes from *Himatanthus sucuuba*. *Planta Medica*, 66(3): 284-286.

MORAIS, K.B., VIEIRA, C.O., HIRATA, I.Y., et al., 2009. Bothrops jararaca antithrombin: isolation, characterization and comparison with other animal antithrombins. *Comparative Biochemistry and Physiology* 152, 171–176.

MURAKAWA, M.; YAMAOKA, K.; TANAKA, Y.; FUKUDA, Y.(2006) Involvement of necrosis factor (TNF)- α in phorbol ester 12-o-tetradecaoylphorbol-13-acetate (TPA)-induced skin edema in mice. *Biochemical Pharmacology*, 71:1331-1336.

MURARI, S. K.; FREY, F. J.; FREY, B. M.; GOWDA, T. V.; VISHWANATH, B. S. (2005). Use of *Pavo cristatus* feather extract for the better management of snakebites: Neutralization of inflammatory reactions. *Journal of Ethnopharmacology*, 99 229–237

MURRAY, A. R.; KISIN, E.; CASTRANOVA, V.; KOMMINENI, C.; GUNTHER, M. R.; SHVEDOVA, A. A.(2007). Phenol-induced in vivo oxidative stress in skin: evidence for enhanced free radical generation, thiol oxidation, and antioxidant depletion. *Chemical Research Toxicology*, 20(12):1769-1777.

NCCLS – NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS.(2000b). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 5^a ed. Villanova, PA: NCCLS approved standard M7-A5, 20,:2.

NCCLS – NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. (2000a). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. 7^a ed. Villanova, PA: NCCLS approved standard M2-A7, 20:1.

NOSTRO A, BLANCO AR, CANNATELLI MA, ENEA V, FLAMINI G, MORELLI I. (2004). Susceptibility of methicillin-resistant staphylococci to oregano essential oil, carvacrol and thymol. *FEMS Microbiology Letters* , 230:191-195.

NUNES,D.S.(1996) “Chemical approaches to the study of Ethnomedicina”l. In: *Medicinal resources of the tropical forest: biodiversity and its importance to human health*. New York: Columbia Univ.Press.

PALOMINO, J.C.; MARTIN, A.; CAMACHO, M.; GUERRA, H.; SWINGS, J.; PORTAELS, F.(2002) Resazurin microtiter assay plate: simple and unexpensive method for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,46(8):2720-2722.

PARK, T., KIM, T., CHOI, S., et al., 2009. Cloning, expression, isotope labeling, purification, and characterization of bovine antimicrobial peptide, lactophorin in Escherichia coli. *Protein Expression and Purification* 65, 23–29.

PARK, Y.K. ; IKEGAKI, M., ABREU, J. A. S. ALCICI, N.M. F.(1998). Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*, 18: 3.

PAULO, M.Q.; LIMA, E.O.; QUEIROZ, E.F.; KAPLAN, M.A.C. (1992). Chemical and antimicrobial analysis obtained of essential oil of *Annonaceae*. *Phytochemical Society of North America Newsletter*, 32(1):27.

PEDROSO JR ., N.N.;& M. SATO. (2003). Percepção da fauna terrestre e conservação no parque nacional do Saperagui. *Revista de educação publica, Cuiabá*, 12 (21) :43-70

PELLETIER, S.W. Diterpenoid Alkaloids. *Natural Product Reports*, 1982.

POSEY, D. A. & OVERAD. W. L.(1987) Uso de formigas *Azteca* spp. Para controle biológico de pragas agrícolas entre os índios Kayapó do Brasil, *Anuario Antropologico*, Rio de Janeiro.

POSEY, D. A. (1983). O Conhecimento entomológico Kayapó: Etnometodologia e sistema cultural. *Anuario Antropologico*, Rio de Janeiro, 81:109-121.

PUNGERÓ, V.; TURULL, A.; QUERALT, J. (1998). Arachidonic acid (AA) and tetradecanoylphorbol acetate (TPA) exert systemic effects when applied topically in the mouse. *Inflammation*, 22,:3.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. (2007). Farmacologia. 6. ed.Trad.: Raimundo Rodrigues Santos [*et al*]. Rio de Janeiro: Elsevier.

RINALDI, A.C.,(2002). Antimicrobial peptides from amphibian skin: an expanding scenario. *Current Opinion in Chemical Biology* 6, 799–804.

ROCHA-MENDES, F.; MIKICH, S. B.; BIANCONI, G. V.; PEDRO, W. A. (2005). Mamíferos do município de Fênix, Paraná, Brasil: etnozooologia e conservação. *Revista Brasileira de Zoologia*, 22 (4): 991-1002.

RODRIGUES, M. T. (1988). Distribution of lizards of the genus *Tropidurus* in Brazil (Sauria: Iguanidae). In: HEYER, W.R. & VANZOLINI P.E. (eds.). Proceeding of a workshop on neotropical distribution patterns. Rio de Janeiro, *Academia Brasileira de Ciências*, 305-315p.

RODRIGUES, M. T. (1987). Sistemática, Ecologia e Zoogeografia dos *Tropidurus* do grupo *Torquatus* ao Sul do rio Amazonas (Sauria, Iguanidae) *Arq de Zoo. S. Paulo*. 31 (3): 105-230.

SALVAGNINI LE, OLIVEIRA JRS, SANTOS LE, MOREIRA RRD, PIETRO RCLR. (2008). Avaliação da atividade antibacteriana de folhas de *Myrtus communis* L. (Myrtaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18:241-244.

SANTOS SC, FERREIRA FS, ROSSI-ALVA JC, FERNANDEZ LG.(2007). Atividade antimicrobiana in vitro do extrato de *Abarema cochliocarpos* (Gomes) Barneby & Grimes. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17:215-219.

SPATA, A. Medicina tradicional ameaça répteis -Uso terapêutico e religioso de jacarés, serpentes e outras espécies agrava risco de extinção. **Ciência Hoje On-line**, 2008

SAPORITO RA, DONNELLY MA, MADDEN AA, GARRAFFO HM, SPANDE TF. (2010). Sex-related differences in alkaloid chemical defenses of the dendrobatid frog *Oophaga pumilio* from Cayo Nancy, Bocas del Toro, Panama. *Journal Natural Products*, 73(3):317-21.

SATISH K. MURARI, FELIX J. FREY BRIGITTE M. FREY, THERE V. GOWDA AND BANNIKUPPE S. VISHWANATH. (2005). Use of *Pavo cristatus* feather extract for the better management of snakebites: Neutralization of inflammatory reactions, *Journal of Ethnopharmacology*, 99(2):229-237.

SATO, Y.; SHIBATA, H.; ARAI, T.; YAMAMOTO, A.; OKIMURA, Y.; ARAKAKI, N.; HIGUTI, T.(2004) Variation in synergistic activity by flavone and its related compounds on the increased susceptibility of various strains of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* to β – lactam antibiotics. *International Journal of Antimicrobial* 24:28-35.

SHIN, Y., YANG, C., JOO, M., (2007). Patterns of using complementary and alternative medicine by stroke patients at two University Hospitals in Korea. Evidence-based, *Complementary and Alternative Medicine*, 5:231–235.

SILVA MAR, HIGINO JS, PEREIRA JV, SIQUEIRA-JÚNIOR JP, PEREIRA MSV. (2008). Antibiotic activity of the extract of *Punica granatum* Linn. over bovine strains of *Staphylococcus aureus*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*,; 18:209-212.

SILVA-SANTOS A., ANTUNES A.M.S., BIZZO H.R., D'AVILA C.A. & SOUZA-SANTOS L.C. (2004). The application of essential oils and terpenics/terpenoids compounds in the fields of pharmaceutical and cosmetic through the knowledge registered in patents. *Revista brasileira de farmacognosia*, 14 :48-50.

SIMÕES C.C., ARAÚJO D.B. & ARAÚJO R.P.C. (2008). Estudo in vitro e ex vivo da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. *Revista brasileira de farmacognosia*, 18: 84-89.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE HERPETOLOGIA. Lista de anfíbios e répteis do Brasil, 2010

SOUTO, F. J. B.; ANDRADE, C. T. S.; SOUZA, A. F. De. (1999). Uma abordagem etnoecológica sobre a zooterapia na medicina popular em Andaraí, Chapada Diamantina, Bahia. In: COSTA NETO, E. M.; SOUTO, F. J. B. (Org.). ENCONTRO BAIANO DE ETNOBIOLOGIA E ETNOECOLOGIA, 1., (1999), Feira de Santana. *Anais... Feira de Santana: UEFS, 2001. p. 181-190.*

STANLEY, P. L.; STEINER, S.; HAVENS, M.; TRANSPOSCH, K. M. (1991). Mouse skin inflammation induced by multiple topical application of 12-O tetradecanoylphorbol-13-acetate, *Journal of Pharmacological and Biophysiological Research*, 4:4.

STILL, J., (2003). Use of animal products in traditional Chinese medicine: environmental impact and health hazards. *Complementary Therapies in Medicine* 11:118–122.

SUBRAHMANYAM M. (2008). A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns*, 24:157–6

TEIXEIRA, D. M. (1992). Perspectivas da etno-ornitologia no Brasil: o exemplo de um estudo sobre a tapiragem. *Boletim do Museu Paraense Emílio Göeldi, Belém*, 8(1):113-121, (Série Zoologia).

THAMMASIRIRAK, S., TORIKATA, T., TAKAMI, K., MURATA, K., ARAKI, T., (2006). Purification, characterization and comparison of reptile lysozymes. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 143:209–217

TUBARO, A.; DRI, P.; DELBELLO, G.; ZILLI, C.; DELLA-LOGGIA, R. (1985). The croton oil test revisited, *Agents Actions*, 17:347-349.

VANDEBROEK, I., THOMAS, E., SANCA, S., et al., (2008). Comparison of health conditions treated with traditional and biomedical health care in a Quechua community in rural Bolivia. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine* 4:1.

VAN SLUYS, M., ROCHA, C.F.D.; VRCIBRADIC, D.; GALDINO, C.A.; FONTES, A.F. (2004). Diet, activity, and microhabitat use of two syntopic *Tropidurus* species (Lacertília: Tropiduridae) in Minas Gerais, Brazil. *Journal of Herpetology*, 38(4): 606-611.

VANZOLINI, P. E.; RAMOS-COSTA, A. M. M.; & VITT, L. J. (1980). Répteis das caatingas. *Academia brasileira de ciências, Rio de Janeiro*.

VÁZQUEZ PE, MÉNDEZ RM, GUIASCÓN OGR ET AL (2006) Uso medicinal de la fauna silvestre en los Altos de Chiapas, México. *Interciencia* 31(7):491–499

VITT, L. J. (1995). The ecology of tropical lizards in the caatinga of Northeastern Brasil. *Occas. Pap. Oklahoma Museum of Natural History*, 1:1-29.

VITT, L. J. (1993) *Canadian Journal of Zoology*, 71:2370–2390.

VITT, L.J CALDWELL, J.P.; ZANI, P.A.; TITUS, T.A. (1997). The role of habitat shift in the evolution of lizard morphology:evidence from tropical *Tropidurus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 94: 3828-3832

VITT, L.J, ZANI, P.A. & CALDWELL, J.P. (1996). Behavioural ecology of *Tropidurus hispidus* on isolate rock outcrops in Amazônia. *Journal of Tropical Ecology*, 12: 81-101.

VITT, L.J. (1991). An introduction to the ecology of Cerrado lizards. *Journal of Herpetology*, 25:79-90.

WANG, B.; FUJISAWA, H.; ZHUANG, L.; FREED, I.; HOWELL, B.G.; SHAHID,S., SHIVJI, G.M.; MAK, T. W.; SAUDER, D.N.(2000). CD4+ Th1 and CD8+ type 1 cytotoxic Tcells both play a crucial role in the full development of contact hypersensitivity, *Journal of Immunology*, 165: 6783-6790.

WANG, H. Q.; KIM, M. P.; TIANO, H. F. LANGENBACH, R.; SMART, R. C.(2001). Protein kinase C-alpha coordinately regulates cytosolic phospholipase A2 activity and the expression of cicloxygenase-2 through different mechanism in mouse keratinocytes. *Molecular Pharmacology*, 59:860-866.

WENDAKOON C, SAKAGUCHI M. (1995). Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *Journal Food Protection*, 58: 280–283.

WILMER, J.L.; BURLESON, F.G.; KAYAMA, F.; KAUNO, J.; LUSTER, M.I. (1994). Cytokine induction in human epidermal keratinocytes exposed to contact irritants and its relation to chemical – induced inflammation in mouse skin. *Journal of Investigative Dermatology*, 102(6):915-922.

YOGANATHAN, S., NICOLOSI, R., WILSON, T., HANDELMAN, G., SCOLLIN, P., TAO, R., BINFORD, P., ORTHOEFER, F., (2003). Antagonism of croton oil inflammation by topical emu oil in CD-1 mice. *Lipids*, 38: 603–607.

YOUNG, J. M.; SPIRES, D. A.; BEDORD, C. J.; WAGNER, B.; BALLARON, S. J.; DE YOUNG, L. M.(1984). The mouse ear inflammatory response to topical arachidonic acid. *The Journal of Investigative Dermatology*, 82:367-371.

ZHOU Z, JIANG Z (2004) International trade status and crisis for snake species in China. *Conservation Biology*, 18:1386–1394.

APÊNDICE

Apêndice 1. Efeito do OTH sobre o edema induzido pela aplicação única de óleo de cróton

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	11,2 ± 0,39	-
Dexametasona	4	1,43 ± 0,46 ^{***}	87,5%
OTH	puro	5,71 ± 0,68 ^{***}	49,1%
OTH	100	8,37 ± 0,71 [*]	25%
OTH	200	11,0 ± 0,73	1,78%
OTH	400	9,51 ± 0,74	15%

Valores expressos em media ± E.P.M. (* p < 0,05; *** p<0,001 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 2. Efeito do OTH sobre o edema de orelha induzido pela aplicação múltipla de óleo de cróton

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	11,6 ± 1,9	-
Dexametasona	4	4,21 ± 0,40 ^{**}	63,7%
OTH	puro	4,21 ± 0,94 ^{***}	63,7%

Valores expressos em media ± E.P.M. (** p < 0,01; *** p<0,001 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 3. Efeito do OTH sobre o edema induzido por Ácido araquidônico (AA) em camundongos *Swiss*

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	5,71 ± 0,26	-
Indometacina	100	2,48 ± 0,47 ^{***}	57%
OTH	puro	3,13 ± 0,20 ^{***}	45,8%

Valores expressos em media ± E.P.M. (*** p<0,001 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 4. Efeito do OTH sobre o edema induzido por fenol

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	9,70 ± 0,96	-
Dexametasona	4	6,00 ± 0,56*	38,1%
OTH	puro	6,00 ± 0,56**	38,1%

Valores expressos em media ± E.P.M. (* p < 0,05; ** p<0,01 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 5. Efeito do OTH sobre o edema de orelha induzido por capsaicina

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	3,22 ± 0,38	-
Dexametasona	4	2,00 ± 0,60*	37,5%
OTH	puro	4,05 ± 0,18	-25%

Valores expressos em media ± E.P.M. (* p < 0,05 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 6. Efeito do OTH sobre o edema de orelha induzido por injeção subcutânea de histamina

GRUPO	Dose (mg/mL)	Edema (mg)	Inibição (%)
Controle Negativo	-	2,78 ± 0,31	-
Dexametasona	4	1,55 ± 0,35*	44,2%
OTH	puro	1,40 ± 0,37*	49,6%

Valores expressos em media ± E.P.M. (* p < 0,05 vs controle); (ANOVA e Teste de Student-Newman-Keul); OTH – Óleo de *Tropidurus hispidus*.

Apêndice 7. Origem Bacteriana e Perfil de Resistência a antibióticos

Bactéria	Origem	Perfil de Resistência
<i>E. coli</i> 27	Ferida cirúrgica	Ast, Ax, Amp, Ami, Amox, Ca, Cfc, Cf, Caz, Cip, Clo, Im, Can, Szt, Tet, Tob
<i>E. coli</i> ATCC10536	-	-
<i>S. aureus</i> 358	Ferida cirúrgica	Oxa, Gen, Tob, Ami, Can, Neo, Para, But, Sis, Net
<i>S. aureus</i> ATCC25923	-	-

Ast – Aztreonan; Ax – Amoxicilina; Amp – Ampicilina; Ami – Amicacina; Amox – Amoxicilina; Ca – Cefadroxil; Cfc – Cefaclor; Cf – Cefalotina; Caz – Ceftazidima; Cip – Ciprofloxacina; Clo – Cloranfenicol; Im – Imipenem; Can – Canamicina; Szt – Sulfametrim; Tet – Tetraciclina; Tob – Tobramicina; Oxa – Oxacilina; Gen – Gentamicina; Neo – Neomicina; Para – Paramomicina; But – Butirosina; Sis – Sisomicina; Net – Netilmicina.

ANEXOS

PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

ARTIGO ACEITO

Veras, H.N.H.; Santos, I.J.M.; Santos, A.C.B.; Fernandes, C.N.; Matias, E.F.F.; Leite, G.O.; Souza, H.H.F.; Costa, J.G.M.; Coutinho, H.D.M. (no prelo), **Flavonoids as nutraceuticals: antibiotic and modulation activity of quercetin and isoquercetin in vitro**. *Current Topics on Nutraceutical Research*.

ARTIGOS SUBMETIDOS

Santos, I. J. M.; Coutinho, H.D.M.; Costa, J. G. M.; Alves, R. R. N.; Almeida, W. O. **Alkaloids in extracts of skins from insectivorous lizards of Northeastern region – Brazil**. *Biochemical Systematics and Ecology*.

RESUMOS PUBLICADOS EM CONGRESSO

Israel Junio Martins dos Santos; Rômulo Romeu da Nóbrega Alves, Diêgo Alves Teles; Samuel Cardozo Ribeiro; Henrique Douglas Melo Coutinho; Waltécio de Oliveira Almeida. **Avaliação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) de Extratos Aquosos de *Tropidurus hispidus* (Spix 1825) e *Tropidurus semitaeniatus***. *II Congresso Latinoamericano De Etnobiologia, VIII Simposio Brasileiro De Etnobiologia E Etnoecologia E III Encontro Pernambucano De Etnobiologia E Etnoecologia*

Israel Junio Martins dos Santos; Rômulo Romeu da Nóbrega Alves, Diêgo Alves Teles; Samuel Cardozo Ribeiro; Henrique Douglas Melo Coutinho; Waltécio de Oliveira Almeida. **Avaliação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) de extrato metanólico da pele de *Ameiva ameiva* (Linnaeus, 1758)**. *II Congresso Latinoamericano De Etnobiologia, VIII Simposio Brasileiro De Etnobiologia E Etnoecologia E III Encontro Pernambucano De Etnobiologia E Etnoecologia*

Israel Junio Martins dos Santos; Diêgo Alves Teles; José Guilherme Sousa; Samuel Cardozo Ribeiro; Henrique Douglas Melo Coutinho; Waltécio de Oliveira Almeida. **Avaliação da Concentração Mínima Inibitória (CIM) do Óleo de *Tropidurus hispidus* (Spix 1825).** *II Congresso Latinoamericano De Etnobiologia, VIII Simposio Brasileiro De Etnobiologia E Etnoecologia E III Encontro Pernambucano De Etnobiologia E Etnoecologia*