



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA – UEPB
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE – CCBS
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ÉRIKA PONCHET ALVES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Bauhinia forficata* Linn

CAMPINA GRANDE - PB

JULHO/2013

ÉRIKA PONCHET ALVES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Bauhinia forficata* Linn

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de odontologia da Universidade Estadual da Paraíba como pré-requisito a obtenção do título de Cirurgiã-Dentista.

Orientadora: Edja Maria Melo de Brito Costa
Co-orientadora: Ana Claudia Dantas de Medeiros

CAMPINA GRANDE – PB

JULHO/2013

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL – UEPB

A474a Alves, Érika Ponchet.
Avaliação da atividade antimicrobiana da *Bauhinia forficata* Linn. [manuscrito] / Érika Ponchet Alves. – 2013.
26 f. : il. color

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2013.

“Orientação: Prof. Dr. Edja Maria Melo de Brito Costa, Departamento de Odontologia.”
“Co-Orientação: Profa. Dra. Ana Cláudia Dantas de Medeiros, Departamento de Farmácia.”

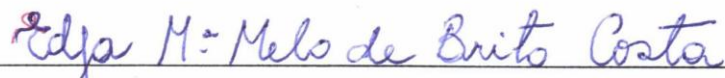
1. Fitoterapia. 2. Plantas medicinais. 3. Atividade antibiótica. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

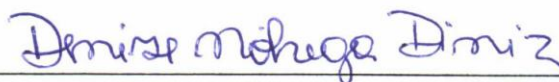
ÉRIKA PONCHET ALVES

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Bauhinia forficata* Linn

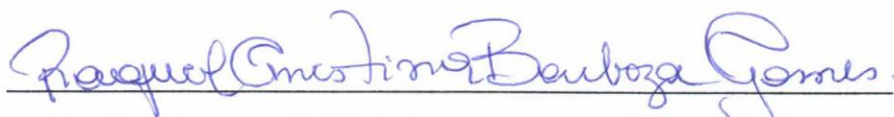
Aprovado em 23/07/2013



Prof^a Dr^a Edja Maria Melo de Brito Costa
Orientadora



Prof^a Dr^a Denize Nóbrega Diniz/ UEPB
Examinadora



Prof^a Dr^a Raquel Christina Barboza Gomes/ UEPB
Examinadora

*Dedico à minha amada mãe Lúcia de Fátima
Ponchet Alves que nunca desistiu de sonhar
meus sonhos. E a minha filha Mariah
Ponchet que foi o incentivo para que eu não
desistisse e seguisse em frente.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar e acima de todos, agradeço a Deus, porque sei que foi Ele quem abriu as portas, me deu força e vontade para que eu pudesse concretizar esse sonho: ser Cirurgiã- Dentista.

À minha família. Meu pai Francisco, minha irmã Eveline, meu irmão Ítalo que foram meu porto seguro sempre que precisei de acalento. Sei da felicidade e do orgulho que estão sentindo nesse momento.

Um agradecimento especial a minha amada mãe Lúcia de Fátima. Que mesmo quando todos já não acreditavam nos meus sonhos, foi firme em me apoiar, em confiar e acima de tudo em dá seu exemplo de mulher guerreira, vencedora e batalhadora que é. Foi nos momentos de dificuldade nessa jornada Mainha, que pensei o quanto você merecia essa vitória, que nesse momento considero mais sua do que minha!

À minha querida, doce, e muito amada filha Mariah Ponchet. Que surgiu como um presente divino na minha vida, na hora certa e da melhor maneira possível. É por você minha filha, que mamãe se esforça e tenta sempre fazer o melhor para que eu possa te dar o melhor também. Você é motivo para que eu nunca pare, e siga sempre buscando aquilo que Deus já preparou para nós.

Aos meus queridos mestres, que sempre com muito amor, carinho e paciência nos passaram além dos ensinamentos em odontologia, o quão importante é sermos pessoas honestas, humanas e que acima de tudo busquemos nossos sonhos e conquistas com dedicação e sabedoria. A todos eles o meu muito obrigado! Vocês não imaginam o quanto cada um com sua contribuição conseguiu me ajudar a cada dia ser uma pessoa melhor e acreditar nos meus sonhos e na minha capacidade. Esse foi o maior dos ensinamentos!

Sem esquecer os meus colegas de turma, que dividiram comigo os momentos durante toda essa trajetória. Tenho um carinho especial por todos vocês!

Agradecer as minhas duas companheiras incansáveis, de todos os momentos: Amanda Gonzaga e Larissa Rangel. Que me ajudaram a tornar mais simples os problemas que surgiram, e ajudaram a retirar do caminho todas as pedras que “teimavam” em aparecer

para dificultar a caminhada. A vocês minhas queridas amigas, só tenho carinho, sentimento de gratidão e uma amizade verdadeira que certamente nos acompanhará para o resto de nossas vidas.

A minha companheira de trabalho Rennaly Lima, que foi meu exemplo de esforço e de amor à pesquisa. Quero seguir seus passos e ter sempre a sua humildade, porque sei que é por seres uma menina de coração tão bom e puro que Deus abre as melhores portas. Você merece as melhores vitórias, as melhores conquistas. Será sempre considerada amiga verdadeira. Deus prepara surpresas boas para pessoas boas também. Você é uma surpresa maravilhosa na minha vida!

Um agradecimento todo especial a minha querida, amiga e orientadora Edja Maria Melo de Brito Costa. Para você professora, guardo os meus melhores sentimentos. Tenho uma gratidão imensurável por ti. Agradeço pela cobrança em sempre me exigir o melhor, por saber sempre tirar o meu melhor também. Por acreditar na minha capacidade, por abrir portas, mostrar o caminho e direcionar meus passos com retidão para ajudar a conquistar meus objetivos. Tenho em você um exemplo de mulher forte, honesta, inteligente e muito dedicada ao trabalho. Espelho de como eu quero ser profissionalmente. Obrigada Senhor por colocar esse anjo em meu caminho!

Não poderia deixar de citar meus colegas do LABDEM em nome da professora Ana Cláudia Medeiros, que sempre com muita presteza, nunca hesitaram em me ajudar quando necessitei, a todos o meu obrigado!

A todas maravilhosas amizades que fiz no CPQBA, na minha ida a Campinas- SP. Além de me ajudarem, ensinarem como é ser uma pesquisadora dedicada e focada, me mostraram que na vida todas as nossas vitórias só dependem do tamanho da nossa vontade. Obrigada a Mariana Figueiredo, Giovanna Fiorito, Giovanna Longato, Michelle Pedroza, Gabriela Marchetti, Débora Vendramini, Luciana Malta, Karin Maia, Núbia Almeida, Sirlene Valério, Paula Pereira, Paula Monteiro, Ana Possenti, Vanessa Helena, pelo exemplo. E um agradecimento todo especial as minhas queridas: Professora Ana Lúcia e a minha amiga Leilane Iwamoto, que me ajudaram, acolheram e tornaram meus dias saudosos mais fáceis de serem vividos. Agradeço por tudo!

E por fim, obrigada a meu querido amor Paulo Fernando Teixeira Almeida. Que me apoia sempre, e mais do que ninguém acredita no meu potencial e no meu sucesso.

Obrigado por ter me incentivado a viajar e por ter me passado amor e tranquilidade quando eu mais precisei de você. Os meus dias tem mais cor, desde quando te conheci. As minhas conquistas certamente serão nossas conquistas. Não se faz mais homens como você, sou sortuda por te ter comigo. Te amo!

A todos, o meu agradecimento!

AValiação DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA *Bauhinia forficata* Linn

Érika Ponchet Alves¹, Rennaly de Freitas Lima², Pedro Luiz Rosalen³, Ana Lúcia Tasca Gois Ruiz⁴, Ana Cláudia Dantas de Medeiros⁵, Edja Maria Melo de Brito Costa⁵

¹Aluna de Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB

²Aluna de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande - PB

³Professor Doutor do programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Piracicaba - SP

⁴Professora Doutora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual de Campinas, Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas, Campinas – SP

⁵Professoras Doutoradas do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB

RESUMO

Diversas pesquisas científicas buscam encontrar extratos vegetais que possuam potencial curativo e profilático para diferentes doenças. O interesse em pesquisar fitoterápicos vem crescendo acompanhado com o aumento no investimento para a descoberta de novos fármacos. Diante disto, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana da *Bauhinia forficata* Linn (Mororó). Com o extrato liofilizado produzido a partir da casca de *B. forficata* foram realizados ensaios microbiológicos, com a finalidade de avaliar a Concentração Inibitória Mínima (CIM), Concentração Bactericida/Fungicida Mínima (CBM/CFM) e inibição de aderência ao biofilme. A análise morfológica do biofilme foi visualizada através de microscopia eletrônica de varredura (MEV). O extrato apresentou forte atividade antifúngica para *Candida albicans* (CIM = 0,015 mg/mL), sendo também capaz de inibir a aderência deste microorganismo ao biofilme formado após 72 horas. Através da MEV, alterações na morfologia celular foram observadas. Diante dos resultados observamos que o extrato apresentou forte atividade antifúngica, possivelmente justificando a inibição de aderência do biofilme, apresentando melhores resultados do que a nistatina.

Palavras – chave: Produtos com ação antimicrobiana; plantas medicinais; medicamentos fitoterápicos.

EVALUATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *Bauhinia forficata* Linn

ABSTRACT

Several scientific studies seek to find plant extracts that have prophylactic and curative potential for different diseases. The interest in researching herbal growing together with the increase in investment for the discovery of new drugs. Given this, it was aimed to evaluate the antimicrobial of *Bauhinia forficata* Linn (Mororó). With the lyophilized extract produced from the bark of *B. forficata* microbiological tests were performed in order to evaluate the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), bactericidal concentration / Fungicide Minimum (MBC / MFC) and inhibition of biofilm adherence. Morphological analysis of the biofilm was visualized on the scanning electron microscope (SEM). The extract showed strong antifungal activity for *Candida albicans* (MIC = 0.015 mg / mL), while also being able to inhibit the adhesion of this microorganism to the biofilm, formed after 72 hours. Through SEM, changes in cell morphology were observed. Given the results we observed that the extract showed strong antifungal activity, possibly explaining the inhibition of adherence of the biofilm, showing better results than nystatin.

Keywords: Products with antimicrobial action, Medicinal plants, herbal medicines

1. INTRODUÇÃO

A cárie dentária, doença periodontal e candidíase são as principais patologias odontológicas que afetam a humanidade. Estas condições são causadas por microrganismos formadores de placas, que residem no interior da cavidade oral. As doenças orais têm sido associadas principalmente com *Actinomyces*, *Actinobacillus*, *Streptococcus* e espécies de *Candida* (SILVA et al.,2012).

O desenvolvimento de resistência a agentes patogênicos tem levado à intensificação na busca a novos medicamentos, contra infecções causadas por fungos, parasitas, bactérias e vírus. E, os antimicrobianos derivados de produtos naturais têm uma longa e importante história no fornecimento de novas moléculas químicas com esta atividade (NCUBE et al.,2012).

Apesar das plantas medicinais já fazerem parte da cultura popular, nas últimas décadas o interesse pela Fitoterapia teve um aumento considerável entre profissionais, usuários dos serviços de saúde e pesquisadores brasileiros, devido a implantação pelo governo, do Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos (SOUZA, et al., 2013).

A descoberta de novos compostos bioativos, também chamados de princípios ativos, é de grande importância para a odontologia, pois infecções na cavidade bucal são frequentes, sejam de origem bacteriana ou fúngica. Além do *E. faecalis*, outras bactérias como o *Streptococcus mutans* e o *Staphylococcus aureus* estão associados a problemas endodônticos, além de serem microrganismos envolvidos na cárie dentária (SILVEIRA et al., 2011). Assim, apesar do Brasil possuir uma grande biodiversidade, com grande potencial fitoterápico, há uma carência de estudos que avaliem o uso de extratos e produtos vegetais para fins odontológicos (PEREIRA et al., 2011).

O gênero *Bauhinia* L. (Caesalpiniaceae) possui aproximadamente 500 espécies, sendo que no Brasil podem ser encontrados cerca de 20% destas, as quais são utilizadas na medicina tradicional, vendidas em feiras livres ou encontradas na composição de diversos fitoterápicos. Estas espécies apresentam diversas indicações populares, principalmente como tônico, expectorante, hipocolesterolemiantes, hipoglicemiantes, antimicrobiana, anti-hipertensiva e anti-inflamatório, sendo de relevante importância a avaliação de sua eficácia contra patógenos orais. Estudos apontam que os flavonóides são os marcadores químicos e responsáveis pelas diversas atividades farmacológicas

desempenhadas pelo gênero *Bauhinia* (CUNHA et al., 2003; ARIGONY, 2005; OLIVEIRA, 2010; PEIXOTO SOBRINHO, et al., 2012; FERRERES et al., 2012).

Diante do exposto, objetivou-se avaliar a atividade antimicrobiana e antiproliferativa da *B. forficata* Linn frente a microrganismos orais, além de caracterizar fitoquimicamente seu extrato bruto.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção do extrato

A planta foi coletada na região do semiárido paraibano, na Serra de Bodocongó, município de Queimadas (7° 22' 25" S, 35° 59' 32"W), na meso região da Borborema e micro região do Cariri Oriental, no mês de setembro de 2012. O espécime testemunha de *B. forficata* Linn encontra-se depositado na coleção do Herbário Manuel de Arruda Câmara (ACAM) da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Campus I, Campina Grande, Paraíba (n° 130/ACAM).

A casca da *B. forficata* (100 g) foi seca em estufa a 40° e posteriormente moída, em moinho de facas, com granulometria em torno de 10 mesh. O extrato hidroalcoólico foi produzido com álcool 80% (250 ml) por 48 horas, em temperatura ambiente. A mistura resultante foi filtrada e os resíduos da filtração foram imersos por mais duas vezes em álcool 80%. As três fases líquidas finais foram concentradas em rotaevaporador a 39° e, depois, liofilizadas.

2.2 Cepas de microrganismos e teste de suscetibilidade

Os microrganismos utilizados foram selecionados por sua relação na participação de doenças orais, sendo eles: *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus sanguis* ATCC 10557, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Candida albicans* ATCC 18804. A atividade antimicrobiana do extrato foi identificada pela determinação das concentrações mínimas inibitórias (CIM), bactericida (CBM) e fungicida (CFM), de acordo com as normas *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2008; CLSI, 2009). O teste foi realizado em microplacas de 96 poços contendo 100 µL/poço dos meios de cultura (Brain Heart Infusion - Difco, Franklin Lakes, NJ, USAAs – para bactérias e RPMI 1640 - Angus Buffers & Biochemicals, Niagara Falls, NY, USA – para a levedura). O

extrato foi diluído em álcool a 40% (8 mg/mL), depositada no primeiro poço e realizada diluições seriadas para se obter concentrações entre 15,62 e 2000 µg/mL. Os controles positivos foram a clorexidina 0,12% (Sigma-Aldrich®) e a nistatina (Sigma-Aldrich®) e o controle negativo o álcool a 40%. Os inóculos bacterianos ($1,0 \times 10^6$ UFC/mL) e fúngico ($5,0 \times 10^3$ UFC/mL) foram padronizados por espectrofotometria e adicionados aos poços. As placas foram incubadas a 37°C por 24 horas. A CIM foi considerada como a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano de forma visível, sendo posteriormente confirmada pela coloração da resazurina 0,01% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA), para bactérias e pela mudança da coloração do meio RPMI 1640 para a levedura.

Para determinação da atividade bactericida ou fungicida do extrato realizaram-se os testes de CBM/CFM, através de plaqueamento, por superfície do material do poço correspondente à CIM e duas concentrações anteriores a este, em meio de cultura específico (BHI Agar para bactérias e Agar Sabouraud Dextrose para levedura). A CBM/CFM foi definida como a menor concentração capaz de não promover nenhum crescimento microbiano em meio de cultura sólido específico.

Todos os experimentos foram realizados em triplicata e em três experimentos independentes.

2.3 Inibição de aderência ao biofilme

Os biofilmes foram formados em placas de 96 poços não tratadas (TPP), para que posteriormente pudéssemos avaliar a aderência de células microbianas ao biofilme. Inicialmente, 100 µl de uma suspensão microbiana contendo 10^5 UFC/mL (leveduras), cultivadas em meio de cultura específico (RPMI 1640) acrescido de 2% de sacarose, foram transferidos para cada poço da placa contendo concentrações entre 15,62 e 2000 µg/mL. Em seguida, a placa foi incubada por 48 horas a 37°C, sob agitação de 75 rpm. Como controle negativo, foram usados três poços de cada placa seguindo a mesma metodologia sem adição de tratamentos. Também foi incluído o controle positivo, nistatina. Todo o experimento foi realizado em triplicata e em três experimentos independentes. Para a quantificação das células aderidas, os poços foram lavados com água destilada e secos à temperatura ambiente por 45 minutos. Posteriormente, em cada poço foram acrescentados 200 µL de solução aquosa de cristal violeta a 1% por 45 minutos. Em seguida, os poços foram lavados novamente com água destilada e

descolorados com 200 μL de etanol a 95%. Transcorridos 45 minutos, 150 μL da solução descolorada de cada poço foi transferida para uma nova placa de 96 poços e a quantidade do cristal violeta mensurada a 525 nm em leitor de microplacas (SpectraMax 340 Tunable Microplate Reader; Molecular Devices Ltda). Os valores de absorbância (capacidade que a substância tem em absorver a luz) das substâncias em teste foram subtraídos dos valores do controle negativo, de modo a avaliar a quantidade de células microbianas aderidas (LI *et al*, 2003)

2.4 Análise da Morfologia Celular

Para análise da morfologia celular, o biofilme foi formado em lâminas de lab-tek (Nunc, Naperville, IL, USA), e tratados com o extrato nas concentrações capazes de inibir o crescimento do microrganismo (CIM/CFM). As células foram fixadas com glutaraldeído 3% em solução tampão de fosfato (PBS), em temperatura ambiente, por 12 horas. Em seguida, o biofilme foi desidratado com etanol em concentrações seriadas (50, 70, 90 e 100%), metalizado com ouro e observado através da microscopia eletrônica de varredura - MEV (JEOL JSM 5600LV, JEOL[®] Tokyo, Japan), observando-se a integridade da parede celular do microrganismo e verificando-se a ocorrência de mudanças ou danos na estrutura das células (HAWSER; DOUGLAS, 1994).

3. RESULTADOS

Os resultados da Concentração Inibitória Mínima, Concentração Bactericida Mínima e Concentração Fungicida Mínima para o extrato da *B. forficata* Linn estão representados na Tabela 1. A tabela mostra que o extrato não apresentou atividade contra as bactérias testadas, porém pode-se observar uma melhor atividade sobre a *Candida albicans*.

Tabela 1: Distribuição das concentrações mínima inibitória bactericida e fungicida do extrato hidroalcoólico da *B. forficata* Linn avaliado contra espécimes de bactérias (ATCC) e *Candida albicans* (ATCC)

Microrganismos	<i>Bahunia forficata</i> Linn	
	CIM ($\mu\text{g/mL}$)	CBM/CFM ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Candida albicans</i>	15,62	> 2000
<i>Streptococcus mutans</i>	> 2000	> 2000
<i>Streptococcus sanguis</i>	>2000	> 2000
<i>Enterococcus faecalis</i>	>2000	> 2000
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	> 2000	> 2000

Em relação à inibição de aderência ao biofilme, o extrato da planta demonstrou desempenho regular até a concentração aproximada de 7,81 $\mu\text{g/mL}$, apresentando medianas maiores que a nistatina (Figura 1).

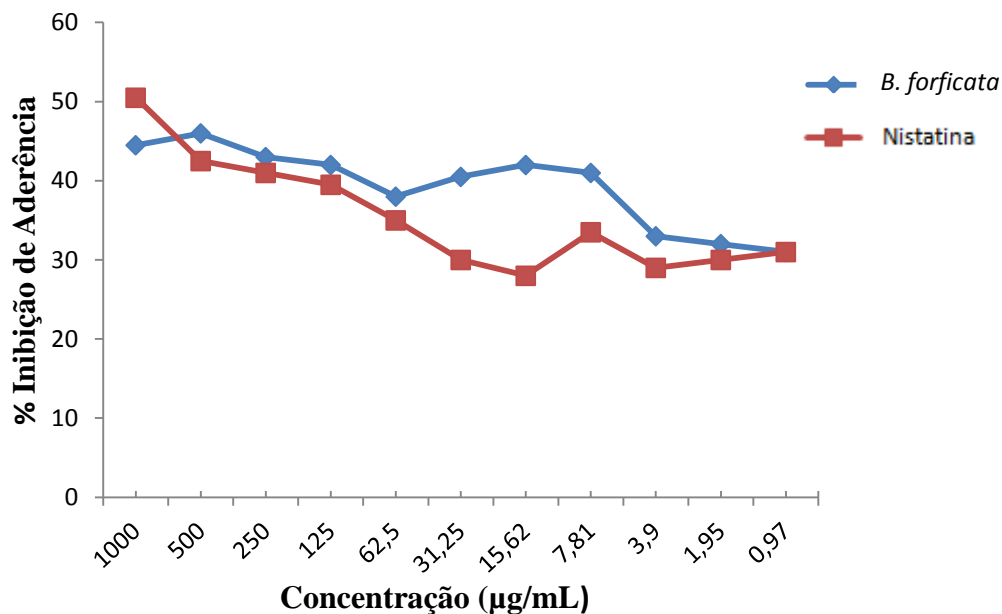


Figura 1. Efeito do extrato da *B. forficata* Linn e da nistatina sobre o biofilme amadurecido (48 horas). As imagens em MEV demonstram o efeito do extrato (Figura 2) nas concentrações da CIM e CFM sobre o biofilme de *Candida albicans*.

As imagens em MEV demonstram o efeito do extrato (Figura 2) nas concentrações da CIM e CFM sobre o biofilme de *Cândida albicans*. Na Figura 3 estão representados o controle do microrganismo e o biofilme tratado com a nistatina. As imagens sugerem a presença de polimorfismo entre as células leveduriformes da *Candida albicans* pela utilização das substâncias em teste.

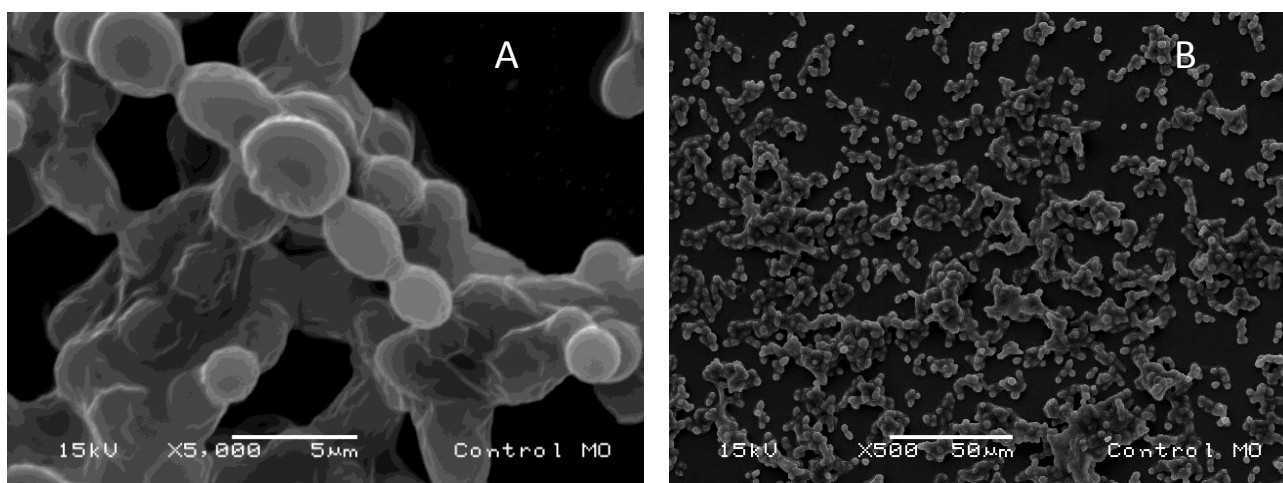


Figura 2. Microfotografia, por microscopia eletrônica de varredura, de biofilme de *Candida albicans* tratado com extrato de *Bauhinia forficata* Linn, nos aumentos de 5000x (A) e 500x (B).

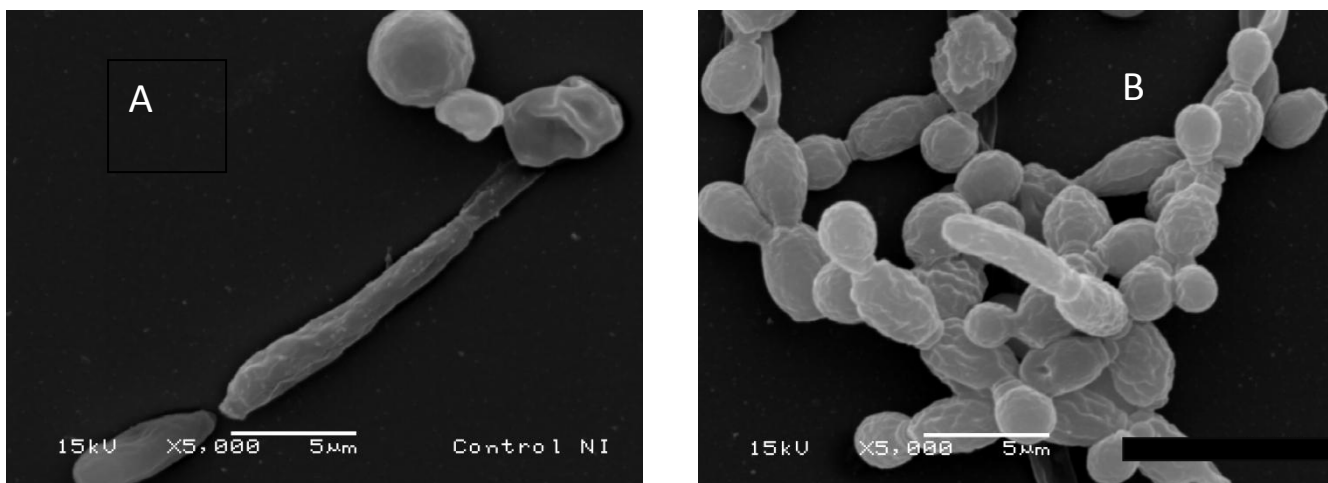


Figura 3. Microfotografia, por microscopia eletrônica de varredura, de biofilme de *Candida albicans* tratado com nistatina (A) e o controle negativo (B)

4. DISCUSSÃO

As pesquisas com produtos naturais têm aumentado significativamente na área odontológica devido à busca por produtos com maior atividade terapêutica, menor toxicidade, melhor biocompatibilidade e menor custo. Além de ter boa aceitação popular a fitoterapia reflete boas perspectivas no mercado de produtos odontológicos (AGRA, 2007; ROCHA, 2012)

Considerando os estudos relacionados à *Bauhinia forficata*, a literatura encontra-se ainda escassa, mostrando a necessidade de aprofundamento e a importância de pesquisar sobre esta espécie (ARIGONY, 2005), visto que alguns estudos mostram os bons resultados desse gênero como antimicrobiano (DUARTE, 2006)

Silva et al. (2002) afirmaram que, apesar de se conhecer muitos dos compostos presentes no gênero da planta estudado, pouco ainda se conhece sobre a atividade farmacológica da maioria das substâncias do gênero citado. Porém já foi relatado que as plantas do gênero *Bauhinia* apresentam forte atividade antifúngica diante da *Candida albicans* (OLIVEIRA, 2010), corroborando dessa forma com os nossos resultados.

Quando se trata de efeito bactericida estudos mostram que o extrato da *B. forficata* Linn (casca), não apresenta atividade pela técnica da microdiluição (BORBA, 2006), entretanto quando utilizado o extrato da *B. forficata* (folha), na mesma técnica, verifica-se atividade (ROCHA, 2012), o que pode ser justificado pela maior quantidade de componentes químicos, como exemplo os taninos, presentes na folha do que na casca (ARIGONY, 2005).

Os agentes antifúngicos podem ser divididos em duas categorias: drogas que afetam a membrana celular e drogas que atuam intracelularmente, interrompendo processos celulares vitais, como síntese de DNA, RNA ou proteínas (SCHAECHTER et al., 2002). Dessa forma podemos então reforçar a ideia de que nosso extrato o qual demonstrou atividade contra *Candida albicans*, pode ter afetado a membrana celular, corroborando dessa forma com o autor supracitado.

É importante que saibamos quais os principais constituintes químicos das plantas, para que dessa forma justifiquemos os efeitos encontrados para cada teste realizado. Portanto, segundo Agra (2007), extratos de plantas que apresentam flavonóides totais em sua constituição podem ser usados para a prevenção de importantes patologias como doenças cardiovasculares, envelhecimento, cânceres, como agente antimicrobianos e outras.

5. CONCLUSÃO

Diante dos resultados pode-se observar que o extrato não apresentou atividade frente às bactérias testadas, porém apresentou forte atividade antifúngica frente à *Candida albicans*, possivelmente justificando a inibição de aderência do biofilme oral, demonstrando ainda melhores resultados do que a nistatina.

AGRADECIMENTOS

Ao LABDEM (Laboratório de Desenvolvimento de Medicamentos) da UEPB, ao Laboratório de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP e ao Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas – UNICAMP, pela realização das análises.

FINANCIAMENTO

A Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC).

REFERÊNCIAS

- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. (2007). Synopsis of the plants know as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Rev Bras Farmacogn**, v.17, n.1, p. 114-140.
- ARIGONY, A. L. V. (2005). **Determinação química e biológica de *Bauhinia forficata* Linck subespécie pruinosa (pata-de-vaca – leguminosae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- BORBA, A. N.; MACEDO, M. (2006). Plantas medicinais usadas em saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. **Acta. Bact. Bras.**, v.20, n.4, p.771-782.
- CHANDRA, S.; MEJÍA, E. G. (2004). Polyphenolic Compounds, Antioxidant Capacity, and Quinone Reductase Activity of an Aqueous Extract of *Ardisia compressa* in Comparison to Mate (*Ilex paraguariensis*) and Green (*Camellia sinensis*) Teas. **J. Agric. Food Chem.**, v. 52, p. 3583-3589.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically; Approved Standard*, vol. 29, no. 2, CLSI document M07-A8, Wayne, Pa, USA, 8th edition, 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute, *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. vol. 22, no 2, CLSI document M38-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA, 6th edition, 2008
- CUNHA, A. P.; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. (2003). **Plantas e produtos vegetais em fitoterapia**, Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, p. 512-513.
- DUARTE, M. C. T. D. (2006). Atividade Antimicrobiana de Plantas Medicinais e Aromáticas Utilizadas no Brasil. **Rev. Multiciencia**. v. 7.
- FERRERES, F.; GIL-IZQUIERDO, A.; VINHOLES, J.; SILVA, S. T.; VALENTÃO, P.; ANDRAD, P. B. (2012). ***Bauhinia forficata* Link authenticity using flavonoids profile: Relation with their biological properties**. Food Chemistry 134, 894–904

HAWSER, S. P.; DOUGLAS, L. J. (1994). Biofilm formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. **Infect Immun.**, v.62, n.3, p.915-21.

LI, X.; YAN, Z.; XU, J. (2003). **Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans***. *Microbiology*, v. 49, p. 353–362.

LIMA JÚNIOR, J. F.; VIEIRA, L. B.; LEITE, M. J. V. F., LIMA, K. C. (2005). O uso de fitoterápicos. **Saúde Rev.**, v.7, n. 16, p. 11-17.

NCUBE, B.; FINNIE, J. F.; VAN STADEN J. (2012). In vitro antimicrobial synergism within plant extract combinations from three South African medicinal bulbs, **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 139, no. 1, pp. 81–89.

OLIVEIRA, M. A. C. 9. (2010). **Plantas medicinais utilizadas para problemas bucais: estudo etnobotânico em diferentes biomas da Paraíba**. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) – Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. 2010.

PEIXOTO SOBRINHO, T.J.S.; GOMES, T.L.B.; CARDOSO, K.C.M.; ALBUQUERQUE, U.P.; AMORIM, E.L.C. (2012). Teor de flavonóides totais em produtos contendo pata-de-vaca (*Bauhinia* L.) comercializados em farmácias de Recife/PE. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.14, n.4, p.586-591.

PEREIRA, E. M. R.; GOMES, R. T.; FREIRE, N. R.; AGUIAR, E. G.; BRANDÃO, M. G. L.; SANTOS, V. R. (2011). *In vitro* Antimicrobial Activity of Brazilian Medicinal Plant Extracts against Pathogenic Microorganisms of Interest to Dentistry. **Planta Med**, v. 77, n. 4, p. 401-4.

ROCHA, E. A. L. S. S. (2012). **Estudo *in vitro* da atividade antimicrobiana de extratos vegetais do semiárido brasileiro contra bactérias relacionada a infecções endodônticas**. 2012. Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) - Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande.

SACOMAN, J.; MONTEIRO, K.M.; POSSENTI A.; FIGUEIRA, G.M.; FOGLIO M.A.; CARVALHO, J.E. (2008). Cytotoxicity and antitumoral activity of

dichloromethane extract and its fractions from *Pothomorphe umbellata*. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 41: 411-415.

SCHAECHTER, M.; ENGLEBERG, N.C.; EISENSTEIN, B.I.; MEDOFF, G. *Microbiologia: Mecanismos das Doenças Infecciosas*, 3 ed. Guanabara Koogan:Rio de Janeiro, 2002.

SILVA, K.; CECHINEL, V. (2002). Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25, n.3, p.449-454, 2002.

SILVA, M. S. P.; BRANDÃO DO; CHAVES T. P.; FORMIGA FILHO, A. L. N.; COSTA, E. M. M. B.; SANTOS, V. L.; MEDEIROS, A. C. D. (2012). Study Bioprospecting of Medicinal Plant Extracts of the Semiarid Northeast: Contribution to the Control of Oral Microorganisms. **Evidence-Based Compl Alternat Med.**; doi:10.1155/2012/681207

SILVEIRA, C. F. M. et al. (2011). Assessment of the antibacterial activity of calcium hydroxide combined with chlorhexidine paste and other intracanal medications against bacterial pathogens. **European Journal of Dentistry**, v. 5, p. 1-7.

ANEXO – NORMAS DA REVISTA

Journal of Experimental Biology

The Journal of Experimental Biology (JEB) é o jornal líder em fisiologia animal comparado e é publicado pela A Companhia de biólogos, uma organização de caridade sem fins lucrativos dirigida por biólogos para o benefício da comunidade biológica.

Desde o seu lançamento como *The British Journal of Experimental Biology*, em 1923, até os dias atuais, JEB continua a publicar artigos sobre a forma ea função dos organismos vivos em todos os níveis de organização biológica, desde o molecular e subcelular ao animal todo integrado. Os nossos autores e leitores refletir um amplo grupo interdisciplinar de cientistas que estudam a fisiologia molecular, celular e do organismo em um contexto evolutivo e ambiental.

JEB recebe muito mais manuscritos do que ele pode publicar. Nos últimos anos, o número de artigos publicados constitui apenas cerca de 40% daqueles apresentados.

O critério mais importante para a publicação no JEB é significativo avanço do conhecimento científico. Em geral, isso significa que um manuscrito deve representar e testar uma hipótese significativa ou responder a uma questão importante que é relevante para as questões básicas da biologia experimental. Os manuscritos devem ser de importância geral para o campo da fisiologia comparativa e ser de interesse para o público amplo de JEB. A revista não tem espaço para papéis descritivas que não deixam claro o seu mecanicista mais amplo e relevância científica. Só em circunstâncias convincentes será um editor decidir que uma exceção a esta diretriz se justifica.

Termos de submissão

JEB considera para publicação de pesquisa original que não tenha sido publicado anteriormente. Submissão ao JEB implica que este é o caso e que o manuscrito submetido não está sob consideração para publicação em outro lugar. Durante o processo de submissão, os autores são convidados a declarar que o manuscrito foi visto e aprovado por todos os autores. Submission também implica que os autores concordam em respeitar o JEB políticas editoriais e de ética de publicação, incluindo a declaração de quaisquer interesses concorrentes para a revista mediante apresentação de um manuscrito.

Os autores devem destacar claramente a descoberta chave (s) do papel e explicar o seu significado e interesse para o campo em sua carta de apresentação.

Após a aceitação do artigo, a maioria dos artigos de Investigação e Métodos e Técnicas de papéis são publicadas no site da revista como autor manuscritos aceitos (Adiantamento artigos on-line) antes da revista edição de texto e layout e antes da publicação das edições impressa e on-line em que será posteriormente aparecem. Autores que preferem seu manuscrito autor aceite não ser publicado como um artigo antecedência on-line deve marcar a caixa de seleção relevante durante o processo de submissão.

Formatos de arquivo

Para texto e tabelas manuscrito, nosso formato de arquivo preferido é o Microsoft Word. Por favor, inclua tabelas como parte do arquivo do manuscrito. Aceitamos também páginas (formato rtf) e látex.

Informações gerais

- (1) Prepare manuscritos em Inglês.
- (2) Fornecer um título curto de não mais de 40 caracteres e pelo menos três palavras-chave para indexação.
- (3) Preparar mesas em formato de "célula" e incluídos no mesmo arquivo do texto principal.
- (4) Não insira quaisquer números no documento manuscrito.
- (5) Não use caixas de imagem em texto para criar caracteres especiais.
- (6) Fontes: Use Times por caracteres normais e um símbolo para caracteres gregos.
- (7) Por favor, indique nomes latinos e autoridade taxonômica (eg Linnaeus) para as espécies experimentais.
- (8) Por favor, forneça os nomes e locais (cidade, estado, país) de todos os fornecedores de equipamentos.
- (9) Por favor, forneça uma lista de símbolos / abreviaturas utilizadas.
- (10) Por favor, forneça informações sobre todo o apoio financeiro e material de sua pesquisa (incluindo a concessão de financiamento) em uma seção separada, intitulado Financiamento

Comprimento Manuscrito

A tabela a seguir mostra o número máximo de palavras do texto principal (excluindo a página de título, resumo, referências e legendas de figuras) para diferentes tipos de artigos.

Tipo de artigo	Contagem máxima de palavra
Research Article	7000
Métodos e Técnicas	2500
Comunicações Breves	2500
Comente	7000
Comentário	4500

Artigos que excedam o número máximo de palavras serão devolvidos aos autores no envio, a menos que a justificação para o aumento do comprimento manuscrito foi incluído na carta.

Resumo

Fornecer um breve resumo de no máximo 250 palavras. Não inclua referências.

Preparando o texto

- (1) Use espaçamento 1,5 para todo o texto e incluir os números de linha.
- (2) itálico palavras latinas.
- (3) Utilize apenas unidades SI.
- (4) As abreviações devem ser definidas na primeira vez que eles são usados em texto - letras maiúsculas deve ser digitado sem paragens (EUA, Reino Unido), em letras minúsculas, com paradas (uv)
- (5) Tipo de um espaço entre um dígito e uma unidade, por exemplo de 1 mm (com exceção de 1%, 4 ° C).
- (6) Utilização de massa molecular relativa (M_r) e não MW. M_r é adimensional e deve ser expressa como $\times 10^3$.
- (7) kDa é aceitável para massa molecular.
- (8) Use SEM e sd para erros padrão, etc
- (9) Os íons - use Ca^{2+} , etc
- (10) compostos isotopicamente rotulados - se isotópica de um elemento no composto, em seguida, o símbolo lugar para o isótopo entre parêntesis rectos, tal como em ^{13}H]-

timidina: se o composto normalmente não contém o elemento marcado isotopicamente, em seguida, usar ^{131}I - ou albumina marcada com ^{131}I -albumina.

(11) Cite cada figura e tabela no texto em ordem numérica.

(12) Utilização fig. 6A, B ou Figs 8, 9.

(13) Não incluir unidades em equações, mas defini-los no texto.

Referências

As referências no texto

Cada uma das referências citadas no texto devem ser listados nas referências e vice-versa: por favor, verifique com atenção.

Citações bibliográficas no texto são as seguintes.

(1) Um autor - (Jones, 1995) ou (Jones, 1995; Smith, 1996).

(2) Dois autores - (Jones e Kane, 1994) ou (Jones e Kane, 1994; Smith, 1996).

(3) Mais de dois autores - (Jones et al, 1995.) Ou (Jones et ai, 1995a; Jones et ai, 1995b; Smith et ai, 1994, Smith et ai, 1995,....).

(4) Evitar qualquer texto adicional dentro dos colchetes, este formato é necessário para pesquisas bibliográficas on-line.

(5) Os trabalhos aceitos para publicação, mas ainda não publicado - lista de referências como (no prelo).

(6) Citação de trabalhos inéditos:

(A) as suas próprias observações inéditas e os resultados enviados para publicação devem ser citadas no texto e não apenas na lista de referência. Utilize o formato (SP Jones, inédito).

(B) Comunicações pessoais, ou seja, as observações não publicadas de outros cientistas, somente será publicado quando fundamentada por permissão por escrito.

Lista de referência

(1) As referências são listadas em ordem alfabética de acordo com o sobrenome e iniciais do primeiro autor. Dentro de um grupo de papéis com o mesmo primeiro autor, a lista de documentos autor único em primeiro lugar, em seguida, papéis com dois autores, em seguida, et al. papéis. Se existe mais de uma referência para cada tipo, organizar em ordem de data. Use a e b para artigos publicados no mesmo ano.

(2) "na imprensa" as citações devem ter sido aceitos para publicação eo nome da revista ou editora incluído.

(3) As iniciais devem seguir todos os sobrenomes na lista de autores; inserir um ponto e espaço após cada inicial e parênteses em volta da data seguido por um ponto final. Use negrito para os nomes dos autores.

(4) Use EUA Nacional abreviaturas padrão para as revistas.

(5) Utilize o seguinte estilo:

Rochlin, MW, Itoh, K., Adelstein, RS e Bridgman, P. C. (1995). Localização de miosina IIA e B isoformas em neurônios cultivados. *J. Sci celular*. **108**, 3661-3670.

Matlin, KS e Caplan, M. J. (1992). Estrutura da célula epitelial e polaridade. *No rim: Fisiologia e Fisiopatologia* (ed. DW Seldin e G. Giebisch), pp 447-473. New York: Raven Press Ltd.

Se houver mais do que 10 autores, usar 'et al.' após o 10 autor.

Financiamento

Detalhes de todas as fontes de financiamento deve ser dada em uma seção separada, intitulada 'Financiamento'. Isso deve aparecer imediatamente após a seção de agradecimentos. Por favor, forneça o nome oficial completo financiamento da agência, ou seja, "National Institutes of Health ", não' NIH. Números de subvenção deve ser dada entre colchetes da seguinte forma: [concessão número xxxx]. Vários números de concessão devem ser separadas por uma vírgula como segue: [concessão números xxxx, yyyy]. As agências devem ser separados por ponto-evírgula (plus 'e' antes da última agência de financiamento). Onde as pessoas precisam ser especificados para certas fontes de financiamento, por favor, adicione "para iniciais" após o órgão competente ou número de concessão. por exemplo, Este trabalho foi financiado pelo National Institutes of Health [AA123456 a CS, BB765432 a MH], e do Conselho de Pesquisa de Álcool e Educação [hfygr667789].

É da responsabilidade do autor correspondente para fornecer a informação relevante concessão de **todos os** autores.

Onde há financiamento específico tenha sido fornecido para a pesquisa, por favor use a seguinte frase: Esta pesquisa recebeu nenhuma subvenção específica de qualquer agência de financiamento nos setores público, comercial ou não fins lucrativos.